

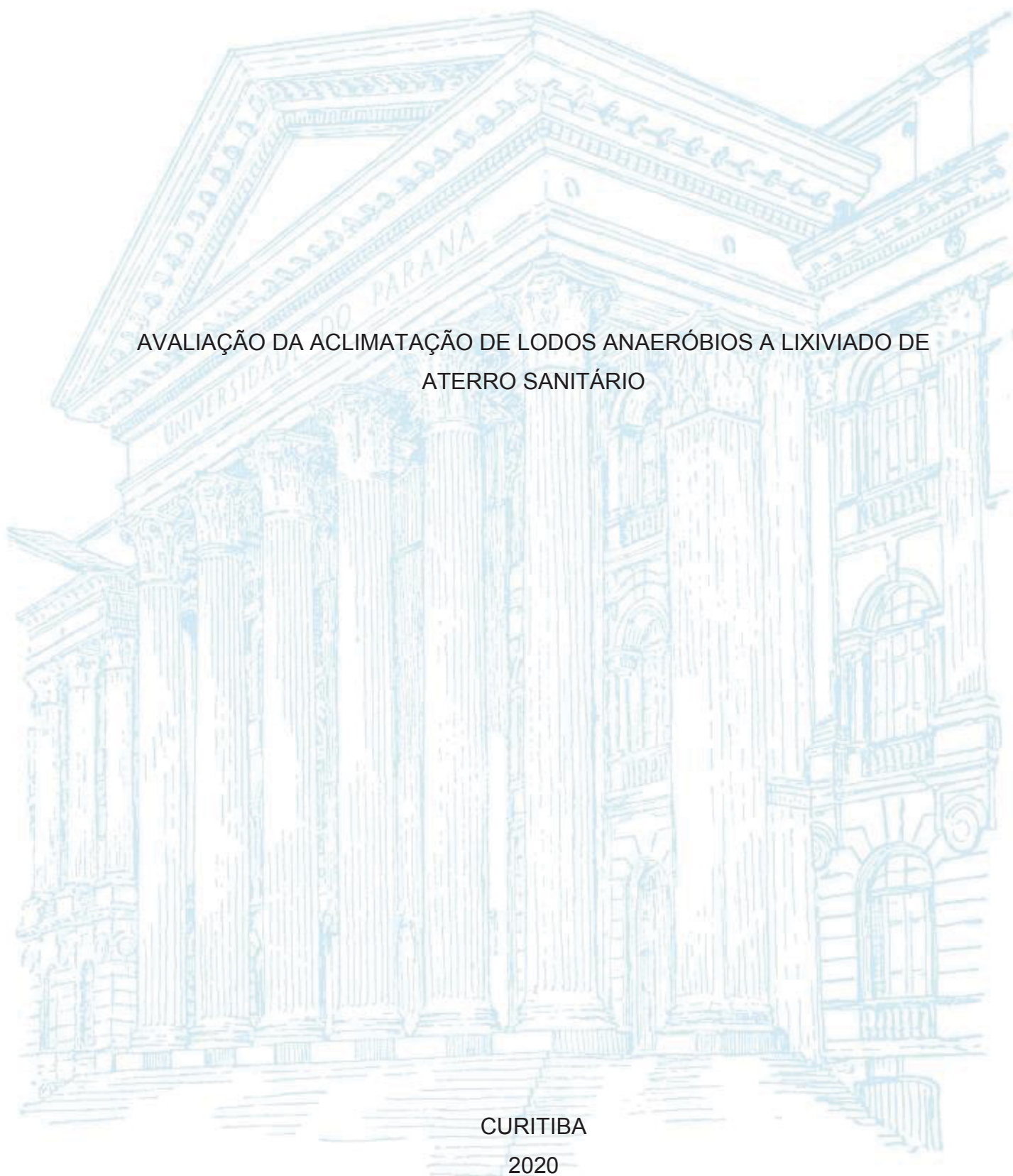
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ELAINE CRISTINA LATOCHESKI

AVALIAÇÃO DA ACLIMATAÇÃO DE LODOS ANAERÓBIOS A LIXIVIADO DE
ATERRO SANITÁRIO

CURITIBA

2020



ELAINE CRISTINA LATOCHESKI

AVALIAÇÃO DA ACLIMATAÇÃO DE LODOS ANAERÓBIOS A LIXIVIADO DE
ATERRO SANITÁRIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Cristina Borba Braga

CURITIBA

2020

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

L358a

Latocheski, Elaine Cristina

Avaliação da aclimação de lodos anaeróbios a lixiviado de aterro
sanitário [recurso eletrônico] / Elaine Cristina Latocheski. – Curitiba, 2020.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia,
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e
Ambiental, 2020.

Orientador: Maria Cristina Borba Braga

1. Lodo. 2. Lixiviação. 3. Microbiota. 4. Biofilme. I. Universidade Federal
do Paraná. II. Braga, Maria Cristina Borba. III. Título.

CDD: 628.44564

Bibliotecário: Elias Barbosa da Silva CRB-9/1894

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE RECURSOS HÍDRICOS E AMBIENTAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ELAINE CRISTINA LATOCHESKI** intitulada: **Avaliação da aclimação de lodos anaeróbios a lixiviado de aterro sanitário**, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 20 de Maio de 2020.

Assinatura Eletrônica

20/05/2020 18:31:43.0

MARIA CRISTINA BORBA BRAGA

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

20/05/2020 18:19:59.0

MIGUEL MANSUR AISSE

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

20/05/2020 18:23:38.0

MARIA CAROLINA VIEIRA DA ROCHA

Avaliador Externo (CENTRO UNIVERSITÁRIO DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

20/05/2020 18:19:44.0

NOEMI NAGATA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

21/05/2020 08:09:18.0

JULIO CESAR DE CARVALHO

Avaliador Externo (DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E BIOTECNOLOGIA - UFPR)

AGRADECIMENTOS

Certa vez, ouvi algo que marcou profundamente: muito se espera daquele que muito recebe. Ao longo dos dois anos de Mestrado, de fato recebi muito, de várias pessoas, a quem gostaria de aqui mencionar e agradecer.

Primeiramente, agradeço à minha orientadora, Maria Cristina Borba Braga, por me acolher, aconselhar e participar da elaboração desta pesquisa. Saiba que, mais do que guiar por meio de palavras, você me inspirou por meio das suas atitudes cotidianas e trajetória pautada em retidão e trabalho duro.

Agradeço aos meus pais, Maria Luiza e Lauro, por me ampararem e me incentivarem, sempre. Especialmente durante o Mestrado, agradeço por não medirem esforços para que eu pudesse me dedicar integralmente à minha pesquisa.

Ao meu parceiro de pesquisa e de jornada, Ricardo Gonçalves de Moraes, agradeço pelos conselhos científicos e de vida e por compartilhar comigo o trabalho, a diversão, a rotina e até os maus momentos. Muito obrigada, também, por ser o refúgio em que posso ser vulnerável e, por isso, inteira.

Ao amigo que o Mestrado me trouxe, Luis Otávio Miranda Peixoto, agradeço pelas conversas científicas, que trouxeram boas ideias, e pelas não científicas, que tornaram meus dias melhores.

Ao meu amigo de longa data, Luciano Gama Braga, agradeço por estar presente, mesmo distante.

À Luciane Lemos do Prado, agradeço pela paciência, entusiasmo pelo trabalho, confiança e disposição em ensinar e discutir ideias.

Ao professor Cristóvão Vicente Scapulatempo Fernandes, agradeço não apenas pelas aulas e reflexões, mas especialmente por ter me ensinado sobre doação, maturidade e resiliência.

Aos professores do PPGERHA, agradeço por atuarem além das salas de aula e dos conteúdos ministrados, participando da formação dos alunos como pesquisadores, profissionais e cidadãos.

Aos professores Maria Carolina Vieira da Rocha, cuja dissertação não saiu da minha mesa de trabalho durante o Mestrado, Miguel Mansur Aisse, um dos primeiros a me apresentar o processo anaeróbio, e Noemi Nagata, que abriu um universo de possibilidades ao me ensinar sobre análises multivariadas, agradeço por estarem comigo desde a Qualificação, oferecendo sugestões valiosas. Ao professor

Júlio Cesar de Carvalho, agradeço por aceitar integrar a banca de avaliação e por também contribuir para o aprimoramento desta pesquisa.

Agradeço àqueles que contribuíram de alguma forma para esta pesquisa: ao Luiz Carlos Barbosa; à Ellen Caroline Baettker; aos funcionários do Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR, em especial à Sharon de Toledo Martins; ao Centro de Tecnologias Avançadas em Fluorescência da UFPR, em particular aos funcionários Israel, Alessandra e Selene; ao Luiz Celso da Silva; ao Márcio Fernandes, representante da Estre Ambiental; ao Milton, representante da Dielab.

Agradeço, finalmente, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de Mestrado (modalidade GM, processo 132336/2018-9).

A todos vocês, dedico este trabalho. É possível que esta pesquisa não tenha impacto direto sobre a vida de vocês, mas é minha forma mais genuína de retribuir por tudo aquilo que vocês têm me dado. Há muito de mim neste trabalho, e espero que seja uma retribuição à altura do ‘muito’ que recebi de vocês nesses dois anos.

Dedico esse trabalho também aos pesquisadores que dele poderão fazer uso, seja gerando novas ideias, aprimorando métodos ou debatendo resultados. A ciência é feita de maneira colaborativa e, da mesma forma como esse trabalho foi construído a partir de muitos outros que o fundamentaram, espero que os resultados aqui apresentados possam oferecer uma contribuição para outros cientistas.

RESUMO

Este estudo avaliou a aclimação de lodos anaeróbios a lixiviado de aterro sanitário. Os lodos foram coletados de lagoa facultativa (L1) e reator UASB (L2), e mantidos a 4 °C durante 6 meses, condição que resultou na redução da AME do L2, de 0,474 g DQO/g SVT.d para 0,149 g DQO/g SVT.d. O armazenamento do lixiviado à temperatura ambiente, durante 6 meses, resultou na diminuição da sua biodegradabilidade. A percentagem inerte da concentração da DQO do lixiviado foi 90% (L1) e 47% (L2). A biodegradabilidade anaeróbia, avaliada por meio da eficiência de remoção da DQO, foi -14% (L1) e -10% (L2). Estes valores confirmaram a recalcitrância do lixiviado armazenado. Planejamentos fatoriais mostraram que a concentração do lixiviado e a origem dos lodos influenciaram estes resultados. Os Lodos 1 e 2 foram inoculados em reatores de bancada, R1 e R2, mantidos a 35 °C durante 120 dias e 112 dias, respectivamente. Ao longo das 10 fases de operação em bateladas sequenciais, a COV variou de 0,05 g DQO/L.d a 1,0 g DQO/L.d; o TDH de 4 dias a 10 dias; a DQO afluente de 500 mg O₂/L a 6.000 mg O₂/L. Durante as fases 1 e 2, cujo substrato foi lixiviado diluído, foram obtidas baixas eficiências de remoção da DQO, entre -70,9% e 10,3%. Também foi identificado o arraste de sólidos quando da remoção do efluente dos reatores. Entre as fases 3 e 9, glicose foi adicionada ao lixiviado, resultando em maiores eficiências de remoção da DQO e menor arraste de sólidos. Na fase 6, as concentrações foram de 2.500 mg/L, para o NAT, e 300 mg/L, para NH₃. Nesta fase, foram obtidas eficiências de remoção da DQO de 42% (R1) e 30% (R2), algumas das maiores desta pesquisa, sugerindo a aclimação da microbiota dos sistemas a estas condições ambientais. A redução do TDH de 10 para 5 dias levou à diminuição da eficiência de remoção da DQO dos sistemas, porém ambos se recuperaram após 20 dias. Nas fases 8 e 9, fosfato foi adicionado ao substrato, na proporção DQO/P de 200/1. A adição deste nutriente não favoreceu a remoção da matéria orgânica, mas, possivelmente, estimulou o crescimento de micro-organismos filamentosos, conforme visualização sob microscopia óptica. Na fase 9, foram obtidas eficiências máximas de remoção da DQO, 49% (R1) e 29% (R2), para COV de 1,0 g DQO/L.d e TDH de 4 dias, sugerindo a aclimação da microbiota a estas condições operacionais. Durante a fase 10, em que lixiviado puro foi utilizado, a microbiota dos sistemas foi inibida, sendo observada a redução da eficiência, provavelmente devida à concentração de NH₃, 1.100 mg/L. Entre as fases 6 e 9, o efluente do R2 apresentou concentração da AVT maior do que o R1. A menor uniformidade do biofilme do L2, visualizada a partir da MEV, também pareceu contribuir para a eficiência mais baixa de remoção da DQO em comparação ao L1. Análises de microscopia dos lodos dos reatores indicaram que micro-organismos hidrogenotróficos foram a maioria da população metanogênica durante a aclimação ao lixiviado.

Palavras-chave: Incubação de micro-organismos. Microbiota anaeróbia. Bioensaios. Biofilme.

ABSTRACT

This research assessed the response of two systems inoculated with anaerobic sludges to sanitary landfill leachate. One sludge was collected from a facultative pond (L1), whereas the other was collected from an UASB reactor (L2). Both sludges were kept at 4 °C for 6 months, which resulted in the reduction of the SMA for L2 from 0.474 to 0.149 g COD/g TVS.d. The storage of leachate at room temperature for 6 months resulted in the reduction of its biodegradability. Leachate presented inert percentages of COD concentration of 90% (L1) and 47% (L2). Anaerobic biodegradability, evaluated through the efficiency of COD removal, presented results of -14% (L1) and -10% (L2). These values confirmed the leachate recalcitrance. The factorial design showed that the leachate concentration, together with the origin of the sludges, was responsible for these results. Sludges 1 and 2 were inoculated in two bench-scale reactors, R1 and R2, kept at 35 °C for 120 and 112 days, respectively. Throughout the 10 phases of operation in sequential batches, the OLR varied from 0.05 to 1.0 g COD/L.d; the HRT from 4 to 10 days and the inlet COD concentration from 500 to 6,000 mg O₂/L. COD removal efficiencies for the phases when the leachate was diluted, i.e., 1 and 2, varied from -70.9% to 10.3%. It was also observed entrainment of solids. Between phases 3 and 9, when glucose was added to the leachate as a supplementary source of carbohydrate, higher efficiencies of COD removal were obtained as well as lower entrainment of solids. Concentrations of 2,500 mg/L for TAN and 300 mg/L for NH₃ were observed during phase 6. In this phase, some of the highest efficiencies of COD removal were obtained, 30% (R2) and 42% (R1). This suggests that the microbiota was adapted to the environment of both systems. A reduction in the efficiency of COD removal in both systems could have been related to the reduction of HRT from 10 to 5 days, however, both reactors recovered after 20 days. Phosphate was added to the substrate in the ratio of COD/P of 200/1. The addition of this macronutrient did not show any correlation to the efficiency of the systems but could have stimulated the growth of filamentous microorganisms, as observed for optical microscopy. Maximum efficiencies of COD removal were observed during phase 9, 49% (R1) and 29% (R2), for the OLR of 1,0 g COD/L.d and HRT of 4 days. In phase 10, since leachate was applied as the only feeding source, inhibition of microbiota in both systems was observed. This condition could have been related to the concentration of NH₃, 1,100 mg/L. The effluent of R2 presented TVA higher than that of the R1, between phases 6 and 9. When L2 and L1 are compared, it can be pointed out that the lower uniformity of L2 biofilm, observed from SEM, also seemed to have contributed to its lower efficiency. SEM analysis suggested that hydrogenotrophic microorganisms were the majority of the methanogenic population during the acclimation to leachate.

Keywords: Incubation of microorganisms. Anaerobic microbiota. Bioassays. Biofilm.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 – FASES DE UM ATERRO SANITÁRIO	25
FIGURA 2.2 – GRUPOS TAXONÔMICOS DAS ARQUEAS METANOGÊNICAS E OS SUBSTRATOS UTILIZADOS NA METANOGÊNESE	37
FIGURA 3.1 – ETAPAS EXPERIMENTAIS E RELAÇÃO COM OS OBJETIVOS ESPECÍFICOS	57
FIGURA 3.2 – ATERRO SANITÁRIO OPERADO PELA ESTRE AMBIENTAL.....	58
FIGURA 3.3 – PONTO DE COLETA DO LODO 1 – ATERRO DA CAXIMBA.....	60
FIGURA 3.4 – PONTO DE COLETA DO LODO 2 – ETE PADILHA SUL	61
FIGURA 3.5 – APARATO EXPERIMENTAL PARA A REALIZAÇÃO DO ENSAIO DA AME	62
FIGURA 3.6 – EXEMPLO DE REPRESENTAÇÃO GRÁFICA TEMPO <i>VERSUS</i> PRODUÇÃO ACUMULADA DE METANO.....	64
FIGURA 3.7 – APARATO EXPERIMENTAL UTILIZADO PARA O ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DA DQO INERTE SOLÚVEL DO LIXIVIADO.....	67
FIGURA 3.8 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS REATORES UTILIZADOS DURANTE A ACLIMATAÇÃO DA MICROBIOTA AO LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO	72
FIGURA 3.9 – REATORES UTILIZADOS DURANTE A ACLIMATAÇÃO DA MICROBIOTA AO LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO.....	73
FIGURA 4.1 – PRODUÇÃO ACUMULADA DE CH ₄ <i>VERSUS</i> TEMPO DE ENSAIO PARA O LODO 1	91
FIGURA 4.2 – PERFIL DE REMOÇÃO DA DQO PARA O LODO 1	92
FIGURA 4.3 – PRODUÇÃO ACUMULADA DE CH ₄ <i>VERSUS</i> TEMPO DE ENSAIO PARA O LODO 2	93
FIGURA 4.4 – PERFIL DE REMOÇÃO DA DQO PARA O LODO 2	94
FIGURA 4.5 – FRASCOS DE REAÇÃO – LODO 1 APÓS 28 DIAS	108
FIGURA 4.6 – FRASCOS DE REAÇÃO – LODO 1 APÓS 28 DIAS, COM LIXIVIADO OU GLICOSE	109
FIGURA 4.7 – FRASCOS DE REAÇÃO – LODO 2 APÓS 28 DIAS	109
FIGURA 4.8 – CONCENTRAÇÃO DA DQO EFLUENTE <i>VERSUS</i> TEMPO PARA O LODO 1 E LIXIVIADO DILUÍDO.....	112

FIGURA 4.9 – CONCENTRAÇÃO DA DQO EFLUENTE <i>VERSUS</i> TEMPO PARA O LODO 2 E LIXIVIADO DILUÍDO	117
FIGURA 4.10 – RESULTADOS PARA A EFICIÊNCIA DE REDUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA DQO PARA OS REATORES 1 E 2.....	123
FIGURA 4.11 – AMOSTRAS DE EFLUENTE DOS REATORES 1 E 2	128
FIGURA 4.12 – RESULTADOS PARA O OXIGÊNIO DISSOLVIDO NO REATOR 1	129
FIGURA 4.13 – RESULTADOS PARA O OXIGÊNIO DISSOLVIDO NO REATOR 2	129
FIGURA 4.14 – RESULTADOS PARA A CONDUTIVIDADE NOS REATORES 1 E 2.....	132
FIGURA 4.15 – RESULTADOS PARA O NAT NOS REATORES 1 E 2	133
FIGURA 4.16 – RESULTADOS PARA A CONCENTRAÇÃO DE NH_3 NOS REATORES 1 E 2.....	143
FIGURA 4.17 – RESULTADOS PARA O pH, AI/AP E AT/AVT PARA O REATOR 1	145
FIGURA 4.18 – RESULTADOS PARA O pH, AI/AP E AT/AVT PARA O REATOR 2	145
FIGURA 4.19 – RESULTADOS PARA A SÉRIE DE SÓLIDOS DO LODO DO REATOR 1	149
FIGURA 4.20 – RESULTADOS PARA A SÉRIE DE SÓLIDOS DO LODO DO REATOR 2	150
FIGURA 4.21 – RESULTADOS PARA A RELAÇÃO SVT/ST DOS LODOS DOS REATORES 1 E 2.....	151
FIGURA 4.22 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 1 – MICROSCOPIA ÓPTICA DE CAMPO CLARO.....	155
FIGURA 4.23 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 2 – MICROSCOPIA ÓPTICA DE CAMPO CLARO.....	157
FIGURA 4.24 – FOTOMICROGRAFIAS PARA OS LODOS DOS REATORES 1 E 2 – MICROSCOPIA ÓPTICA DE CAMPO CLARO.....	159
FIGURA 4.25 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 1 – MICROSCOPIA ÓPTICA DE FLUORESCÊNCIA.....	161
FIGURA 4.26 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 2 – MICROSCOPIA ÓPTICA DE FLUORESCÊNCIA.....	161

FIGURA 4.27 – FOTOMICROGRAFIAS DE LIXIVIADO E MATERIAL SUPORTE – MICROSCOPIA ÓPTICA DE FLUORESCÊNCIA.....	162
FIGURA 4.28 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 1 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	164
FIGURA 4.29 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 1 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – CÉLULAS COCÓIDES	165
FIGURA 4.30 – FOTOMICROGRAFIA – GÊNERO <i>METHANOSARCINA</i> sp.....	165
FIGURA 4.31 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 2 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	167
FIGURA 4.32 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 2 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – CÉLULAS BACILIFORMES	169
FIGURA 4.33 – FOTOMICROGRAFIA – GÊNERO <i>METHANOBREVIBACTER</i> sp	169

LISTA DE QUADROS

QUADRO 2.1 – VALORES MÁXIMOS E MÍNIMOS OBSERVADOS PARA OS PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO DE LIXIVIADOS BRASILEIROS	28
QUADRO 2.2 – PRINCIPAIS PARÂMETROS QUÍMICOS DOS LIXIVIADOS E RESPECTIVOS PADRÕES DE LANÇAMENTO	29
QUADRO 2.3 – PRINCIPAIS INTERFERENTES RELATADOS DO PROCESSO ANAERÓBIO.....	42
QUADRO 2.4 – PRINCIPAIS BIOENSAIOS APLICADOS À AVALIAÇÃO DE SISTEMAS ANAERÓBIOS E SUAS LIMITAÇÕES	47
QUADRO 2.5 – EXEMPLOS DE TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS PARA A AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA DO PROCESSO ANAERÓBIO	51
QUADRO 3.1 – PARÂMETROS QUÍMICOS PARA A CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO	59
QUADRO 3.2 – PARÂMETROS PARA CARACTERIZAÇÃO DOS LODOS.....	61
QUADRO 3.3 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS PARA A REALIZAÇÃO DO ENSAIO DA AME.....	63
QUADRO 3.4 – VARIÁVEIS E NÍVEIS DO PLANEJAMENTO FATORIAL PARA A REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS PARA A DETERMINAÇÃO DA DQO SOLÚVEL INERTE E DA BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA ..	67
QUADRO 3.5 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS PARA A REALIZAÇÃO DO BIOENSAIO DE DQO SOLÚVEL INERTE E DE BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA – LODO 1	68
QUADRO 3.6 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS PARA A REALIZAÇÃO DO BIOENSAIO DE DQO SOLÚVEL INERTE E DE BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA – LODO 2	68
QUADRO 3.7 – CONDIÇÕES DE INOCULAÇÃO DOS REATORES	73
QUADRO 3.8 – FASES E CONDIÇÕES ADOTADAS DURANTE A OPERAÇÃO DOS REATORES	75
QUADRO 3.9 – PARÂMETROS DE MONITORAMENTO DOS REATORES ANAERÓBIOS	77
QUADRO 3.10–ANÁLISES ESTATÍSTICAS UTILIZADAS AO LONGO DA PESQUISA.....	80

QUADRO 4.1 – RESULTADOS PARA A CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO	81
QUADRO 4.2 – RESULTADOS PARA A SÉRIE DE SÓLIDOS DO LODO 1	88
QUADRO 4.3 – RESULTADOS PARA A SÉRIE DE SÓLIDOS DO LODO 2	89
QUADRO 4.4 – ATIVIDADE METANOGENICA ESPECÍFICA DOS LODOS 1 E 2 ..	91
QUADRO 4.5 – RESULTADOS PARA O CÁLCULO DOS EFEITOS SOBRE A DQO INERTE DO LIXIVIADO – LODO 1	102
QUADRO 4.6 – RESULTADOS PARA O CÁLCULO DOS EFEITOS SOBRE A DQO INERTE DO LIXIVIADO – LODO 2	104
QUADRO 4.7 – RESULTADOS PARA O CÁLCULO DOS EFEITOS SOBRE A PERCENTAGEM DA DQO EFLUENTE EM RELAÇÃO À DQO AFLUENTE – LODO 1	115
QUADRO 4.8 – RESULTADOS PARA O CÁLCULO DOS EFEITOS SOBRE A PERCENTAGEM DA DQO EFLUENTE EM RELAÇÃO À DQO AFLUENTE – LODO 2	120
QUADRO 4.9 – RESULTADOS PARA A RELAÇÃO SVT/ST DOS LODOS DOS REATORES 1 E 2	153
QUADRO 4.10 – COMPARATIVO ENTRE AS TÉCNICAS DE MICROSCOPIA UTILIZADAS E SUGESTÕES DE APLICAÇÃO	171

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1 – SOLUÇÃO DE MICRONUTRIENTES UTILIZADA NO ENSAIO DA AME	63
TABELA 3.2 – SOLUÇÃO DE MACRONUTRIENTES UTILIZADA NO ENSAIO DA AME	63
TABELA 4.1 – CONCENTRAÇÃO DA DQO APÓS O ENSAIO DA AME	97
TABELA 4.2 – ALCALINIDADE E ACIDEZ VOLÁTIL APÓS O ENSAIO DA AME	97
TABELA 4.3 – RESULTADOS PARA A CONCENTRAÇÃO DA DQO RESIDUAL – LODO 1	100
TABELA 4.4 – RESULTADOS PARA A CONCENTRAÇÃO DA DQO SOLÚVEL INERTE DO LIXIVIADO – LODO 1	101
TABELA 4.5 – RESULTADOS PARA A CONCENTRAÇÃO DA DQO RESIDUAL – LODO 2	103
TABELA 4.6 – RESULTADOS PARA A CONCENTRAÇÃO DA DQO SOLÚVEL INERTE DO LIXIVIADO – LODO 2	104
TABELA 4.7 – RESULTADOS PARA A DQO SOLÚVEL INERTE DO LIXIVIADO PARA OS PONTOS CENTRAIS	105
TABELA 4.8 – RESULTADOS PARA A EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DA DQO PARA O LODO 1	114
TABELA 4.9 – RESULTADOS PARA A PERCENTAGEM DA DQO EFLUENTE EM RELAÇÃO À DQO AFLUENTE PARA O LODO 1	115
TABELA 4.10-RESULTADOS PARA A EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DA DQO PARA O LODO 2	118
TABELA 4.11-RESULTADOS PARA A PERCENTAGEM DA DQO EFLUENTE EM RELAÇÃO À DQO AFLUENTE PARA O LODO 2	119
TABELA 4.12-RESULTADOS PARA A BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA PARA OS PONTOS CENTRAIS – LIXIVIADO DILUÍDO.....	121
TABELA 4.13-RESULTADOS PARA AS MÉDIAS DE CONCENTRAÇÕES DA DQO EFLUENTE E EFICIÊNCIA PARA OS REATORES 1 E 2	124
TABELA 4.14-RESULTADOS PARA AS CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE PARA OS REATORES 1 E 2 DURANTE A FASE 9	138
TABELA 4.15-RESULTADOS PARA AS MÉDIAS DE CONCENTRAÇÕES DE AT E AVT PARA OS REATORES 1 E 2	139

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ABRELPE - Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais

Al - alcalinidade intermediária

AME - Atividade Metanogênica Específica

ANOVA - Análise de Variância

AP - alcalinidade parcial

AT - alcalinidade total

atm - atmosfera

AVT - acidez volátil total

cm – centímetro

COD – *Chemical Oxygen Demand* (Demanda Química de Oxigênio)

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

Coord. - coordenador (a, es)

COV - carga orgânica volumétrica

d - dia

DBO - Demanda Biológica de Oxigênio

DBO₅ - Demanda Biológica de Oxigênio determinada em ensaio conduzido a 20 °C e mantido por cinco dias

DNA - *deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)

DQO - Demanda Química de Oxigênio

Ed. - editor (a, es)

ETE - Estação de Tratamento de Esgotos

g - grama

h – hora

HAc - ácido acético

HRT – *hydraulic retention time* (tempo de detenção hidráulica)

kg - quilograma

L – litro

m - massa

M - molar (mol/L)

m³ - metro cúbico

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

mg – miligrama

mL – mililitro

μm – micrômetro (10^{-6} m)

min - minuto

mS – miliSiemens

μS - microSiemens

NAT - nitrogênio amoniacal total (soma de amônia e íon amônio)

nm - nanômetro (10^{-9} metros)

NMP - número mais provável

OLR – *organic loading rate* (carga orgânica volumétrica)

Org. - organizador (a, es)

pH - potencial hidrogeniônico

RSU - resíduos sólidos urbanos

SANEPAR - Companhia de Saneamento do Paraná

SEM – *Scanning Electron Microscopy* (Microscopia Eletrônica de Varredura)

SFT - sólidos fixos totais

SMA – *specific methanogenic activity* (atividade metanogênica específica)

ST – sólidos totais

SVT - sólidos voláteis totais

TAN – *total ammonia nitrogen* (nitrogênio amoniacal total)

TDH – tempo de detenção hidráulica

TVA – *total volatile acidity* (acidez volátil total)

TVS – *total volatile solids* (sólidos voláteis totais)

UASB - *Upflow Anaerobic Sludge Bed Reactor* (reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo)

UNT – unidade nefelométrica de turbidez

v - volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	OBJETIVOS	21
1.1.1	Objetivo geral	21
1.1.2	Objetivos específicos.....	21
2	REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1	RESÍDUOS SÓLIDOS: PANORAMA E PERSPECTIVAS NO BRASIL.....	22
2.2	LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO	23
2.2.1	Fases da degradação dos resíduos e sua influência na composição do lixiviado.....	23
2.2.2	Características gerais e composição dos lixiviados brasileiros	25
2.2.3	Tecnologias aplicadas ao tratamento do lixiviado	27
2.2.3.1	Tratamentos biológicos aplicados ao lixiviado de aterro sanitário	30
2.3	PRINCÍPIOS DO TRATAMENTO ANAERÓBIO.....	32
2.3.1	Microbiota do tratamento anaeróbio	32
2.3.1.1	Bactérias hidrolíticas.....	33
2.3.1.2	Bactérias fermentativas acidogênicas	33
2.3.1.3	Bactérias sintróficas acetogênicas e oxidadoras de acetato	33
2.3.1.4	Arqueas metanogênicas	34
2.3.2	Interferentes do processo anaeróbio	38
2.3.3	Bioensaios aplicáveis aos processos anaeróbios.....	43
2.3.3.1	Atividade metanogênica específica (AME)	43
2.3.3.2	Demanda Química de Oxigênio solúvel inerte – DQO inerte.....	44
2.3.3.3	Biodegradabilidade anaeróbia	45
2.3.3.4	Relação DBO ₅ /DQO e sua aplicação particular ao lixiviado de aterro sanitário	46
2.3.4	Parâmetros típicos de controle e monitoramento do processo anaeróbio	48
2.3.4.1	Parâmetros de monitoramento da eficiência do processo anaeróbio	48
2.3.4.2	Parâmetros de monitoramento da estabilidade do processo anaeróbio	49
2.3.4.3	Parâmetros de monitoramento da microbiota do processo anaeróbio.....	50
2.3.4.4	Técnicas de microscopia aplicadas a lodos anaeróbios	51
2.4	PLANEJAMENTOS FATORIAIS APLICADOS A SISTEMAS ANAERÓBIOS.....	54

3	MATERIAL E MÉTODOS.....	56
3.1	COLETA E CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO E DOS LODOS.....	56
3.1.1	Coleta do lixiviado de aterro sanitário.....	56
3.1.2	Caracterização do lixiviado de aterro sanitário.....	58
3.1.3	Coleta dos lodos.....	59
3.1.4	Caracterização dos lodos.....	61
3.1.4.1	Atividade metanogênica específica (AME).....	61
3.2	BIOENSAIOS.....	66
3.2.1	DQO solúvel inerte.....	66
3.2.2	Biodegradabilidade anaeróbia.....	70
3.3	OPERAÇÃO DOS SISTEMAS ANAERÓBIOS E MONITORAMENTO DE VARIÁVEIS QUÍMICAS, FÍSICAS E BIOLÓGICAS.....	72
3.3.1	Montagem e operação dos sistemas anaeróbios visando à aclimação ao lixiviado de aterro sanitário.....	72
3.3.2	Monitoramento dos sistemas anaeróbios durante a aclimação ao lixiviado de aterro sanitário.....	76
3.3.3	Análises de microscopia dos lodos dos reatores.....	78
3.3.3.1	Microscopia óptica de campo claro.....	78
3.3.3.2	Microscopia óptica de fluorescência.....	78
3.3.3.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	79
3.4	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	80
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
4.1	RESULTADOS PARA A CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO.....	81
4.1.1.1	Alcalinidade e acidez volátil.....	82
4.1.1.2	Íons inorgânicos.....	84
4.1.1.3	Biodegradabilidade do lixiviado de aterro sanitário.....	85
4.1.1.4	Nutrientes: nitrogênio e fósforo.....	86
4.2	RESULTADOS PARA A CARACTERIZAÇÃO DOS LODOS ANAERÓBIOS.....	88
4.2.1	Série de sólidos.....	88
4.2.1.1	Comparação entre os resultados da série de sólidos em função do armazenamento.....	89
4.2.1.2	Comparação entre os resultados para os sólidos dos Lodos 1 e 2.....	90
4.2.2	Atividade metanogênica específica (AME).....	90

4.2.2.1	Comparação entre os resultados da AME em função do armazenamento...	91
4.2.2.2	Comparação entre os resultados para a AME dos Lodos 1 e 2	95
4.2.3	Resultados para a DQO, alcalinidade e acidez volátil total	96
4.3	RESULTADOS PARA OS BIOENSAIOS	99
4.3.1	DQO solúvel inerte	99
4.3.1.1	DQO solúvel inerte para os experimentos inoculados com o Lodo 1	99
4.3.1.2	DQO solúvel inerte para os experimentos inoculados com o Lodo 2	103
4.3.1.3	Comparação entre os resultados para a DQO inerte para os Lodos 1 e 2	105
4.3.1.4	Influência da glicose sobre a sedimentação dos Lodos 1 e 2.....	108
4.3.2	Biodegradabilidade anaeróbia	111
4.3.2.1	Biodegradabilidade anaeróbia para os experimentos associados ao Lodo 1.....	111
4.3.2.2	Biodegradabilidade anaeróbia para os experimentos associados ao Lodo 2.....	116
4.3.2.3	Comparação entre os resultados para a biodegradabilidade anaeróbia para os Lodos 1 e 2	121
4.4	RESULTADOS PARA O MONITORAMENTO DOS REATORES 1 E 2	122
4.4.1	Resultados para a eficiência dos sistemas anaeróbios	123
4.4.1.1	Fases 1 e 2: utilização do lixiviado diluído	125
4.4.1.2	Fases 3 a 9: utilização da glicose como fonte suplementar de carbono.....	127
4.4.1.3	Fase 6: aclimação dos lodos a condições ambientais	131
4.4.1.4	Fases 7 a 9: aclimação dos lodos a condições operacionais	134
4.4.1.5	Fases 6 a 9: diferenças entre as eficiências dos Reatores 1 e 2.....	137
4.4.1.6	Fase 10: utilização do lixiviado puro	141
4.4.2	Resultados para a estabilidade dos sistemas anaeróbios	144
4.5	RESULTADOS PARA OS LODOS DOS REATORES 1 E 2	149
4.5.1	Série de sólidos para os lodos dos Reatores 1 e 2	149
4.5.2	Análises de microscopia dos lodos dos reatores de bancada	154
4.5.2.1	Resultados para a microscopia óptica de campo claro.....	154
4.5.2.2	Resultados para a microscopia óptica de fluorescência	160
4.5.2.3	Resultados para a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	163
5	CONCLUSÃO.....	173
6	SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS.....	175
	REFERÊNCIAS	176

APÊNDICE 1 - EQUAÇÕES UTILIZADAS PARA A INTERPRETAÇÃO DOS PLANEJAMENTOS FATORIAIS.....	187
APÊNDICE 2 - RESULTADOS DETALHADOS PARA OS PLANEJAMENTOS FATORIAIS ASSOCIADOS AOS BIOENSAIOS	188

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, são produzidos diariamente mais de 1 kg de resíduos sólidos por habitante. Segundo o Panorama dos Resíduos Sólidos (ABRELPE, 2019), em 2018 foram geradas mais de 79 milhões de toneladas destes resíduos, das quais aproximadamente 92% foram coletadas. Dessa fração, 59,5% foram enviadas a aterros sanitários. Embora sejam uma das alternativas de destinação e disposição final de resíduos sólidos mais utilizadas no país, os aterros sanitários geram passivos ambientais a serem considerados, entre os quais o lixiviado.

O lixiviado apresenta composição e vazão variáveis em função da idade do aterro e de fatores climáticos, hidrogeológicos e inerentes aos resíduos aterrados, o que pode interferir na eficiência das estações de tratamento. Assim, visando ao cumprimento das exigências para a disposição do lixiviado de aterro sanitário em corpos receptores e em decorrência do seu potencial poluidor e de suas características variáveis, é necessário que os sistemas de tratamento biológico, físico ou químico sejam projetados para que resulte maior eficiência de operação, tanto do ponto de vista ambiental quanto econômico.

Entre as opções para o tratamento do lixiviado, os processos biológicos são os mais utilizados. Os sistemas associados baseiam-se em reações bioquímicas, promovidas por micro-organismos, que levam à degradação de compostos, tornando-os menos prejudiciais ao ambiente e à saúde humana. Um dos processos biológicos é o anaeróbio, que apresenta vantagens como a geração de biogás, que pode ser aproveitado como fonte energética alternativa, reduzida quantidade de lodo e baixo consumo de energia. Entretanto, quando concebido para a estabilização do lixiviado, o processo anaeróbio pode sofrer influência de condições operacionais e ambientais, estas relacionadas às características associadas ao próprio lixiviado, como a presença de compostos recalcitrantes ou tóxicos à microbiota, promotora do tratamento.

Uma das formas de tornar os sistemas de tratamento anaeróbio do lixiviado mais eficientes e, principalmente, de garantir a estabilidade do processo biológico, é promover a manutenção dos micro-organismos mais aptos e resistentes às condições adversas típicas desta água residuária. Isso pode ser obtido mediante aclimação da microbiota às condições ambientais associadas ao lixiviado. O melhor desempenho do tratamento anaeróbio do lixiviado também pode ser

alcançado por meio da seleção de condições operacionais que favoreçam a adaptação e o desenvolvimento da microbiota.

Para que estas ações sejam implementadas, é necessário o monitoramento dos micro-organismos presentes no sistema de tratamento ao longo de suas diversas etapas. Assim, a microbiota e sua eficiência para a degradação dos resíduos devem ser avaliadas desde a aclimação até a estabilização do processo. Também deve ser analisada a influência das variáveis operacionais, físicas e químicas do sistema sobre os micro-organismos. Dessa forma, à medida que forem identificados os principais fatores que impactam a adaptação e manutenção da microbiota e, conseqüentemente, o tratamento biológico anaeróbio do lixiviado de aterro sanitário, a eficiência e a estabilidade do processo poderão ser otimizadas.

Ademais, a aclimação dos micro-organismos responsáveis pelo tratamento biológico de águas residuárias é fundamental para que a partida dos sistemas associados seja bem-sucedida e rápida. A adaptação da microbiota a condições operacionais e ambientais que podem interferir sobre a eficiência e estabilidade dos sistemas é uma alternativa de baixo custo e fácil realização, o que a torna vantajosa para a implantação em estações de tratamento de águas residuárias.

Diante do exposto, é possível justificar o desenvolvimento desta pesquisa, que buscou avaliar a aclimação da microbiota de lodos anaeróbios ao lixiviado de aterro sanitário em função de distintas condições operacionais e ambientais.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a influência das condições operacionais e ambientais sobre a aclimação da microbiota de lodos anaeróbios a lixiviado de aterro sanitário.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) avaliar a influência das condições de armazenamento sobre as características físicas, químicas e biológicas do lixiviado de aterro sanitário e dos lodos anaeróbios;
- b) avaliar a tratabilidade do lixiviado de aterro sanitário por processo anaeróbio em reatores de bancada;
- c) avaliar a influência das condições operacionais e ambientais sobre o desempenho e arranjo estrutural da comunidade microbiana em aclimação para o tratamento anaeróbio de lixiviado de aterro sanitário;
- d) comparar lodos de duas origens diferentes quanto à capacidade de aclimação ao lixiviado de aterro sanitário.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Inicialmente, esta revisão discorrerá sobre o lixiviado, passivo ambiental do aterramento de resíduos. A seguir, serão mostrados princípios, vantagens e limitações do processo biológico anaeróbio para o tratamento do lixiviado. Por fim, as técnicas utilizadas ao longo do trabalho serão brevemente expostas.

2.1 RESÍDUOS SÓLIDOS: PANORAMA E PERSPECTIVAS NO BRASIL

As atividades humanas estão associadas à geração de resíduos sólidos e líquidos. Quando os resíduos sólidos são provenientes de residências urbanas, em conjunto com os resíduos de serviços urbanos de limpeza (como varrição e limpeza de vias públicas), recebem a denominação de resíduos sólidos urbanos (RSU). Os RSU podem incluir, ainda, resíduos de estabelecimentos comerciais e de prestadores de serviços, se forem caracterizados como não perigosos.

De acordo com o relatório da Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais (ABRELPE), em 2018, foram geradas, no Brasil, 79 milhões de toneladas de RSU (ABRELPE, 2019). Este montante corresponde ao equivalente populacional de, aproximadamente, 1 kg RSU/habitante por dia. Ainda, segundo a ABRELPE (2019), observa-se uma tendência de crescimento na quantidade *per capita* de RSU gerada a cada ano. De 2017 para 2018, a quantidade total de RSU gerada no país aumentou cerca de 1%, ao passo que a população brasileira cresceu 0,4% no mesmo período.

Segundo a ABRELPE (2019), da massa total de RSU gerados no Brasil, 92% foi coletada em 2018, o que corresponde a 72,7 milhões de toneladas. Destas, 43,3 milhões foram enviadas a aterros sanitários, o que representa 59,5% da massa total coletada (ABRELPE, 2019), evidenciando a dependência do país destas obras como alternativa para a destinação e disposição final dos RSU.

Os aterros sanitários apresentam vantagens em relação a alguns métodos de destinação (incineração, por exemplo), como menor custo para a implantação e maior facilidade operacional (O'LEARY; TCHOBANOGLOUS, 2002; RENOU et al., 2008). Porém, embora seja considerada a solução mais adequada para a disposição de RSU no Brasil, assim como em muitos países (RENOU et al., 2008; PENG, 2017), o aterramento de resíduos gera passivos ambientais, entre os quais o

lixiviado. Existe, ainda, um agravante em relação à disposição de resíduos em aterros: o lixiviado continua a ser gerado mesmo após o encerramento do aterro, exigindo tratamento tipicamente por 30 anos ou mais (O'LEARY; TCHOBANOGLIOUS, 2002).

2.2 LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO

O lixiviado é água residuária gerada como resultado da decomposição da matéria orgânica presente nos resíduos e em presença de umidade e da água de chuva infiltrada nas células de um aterro. O lixiviado oferece risco ambiental quando não coletado e tratado adequadamente, pois apresenta composição física e química complexa e as quantidades produzidas estão associadas a elevadas cargas poluidoras quando lançados em sistemas ambientais terrestres ou aquáticos.

2.2.1 Fases da degradação dos resíduos e sua influência na composição do lixiviado

Apesar da concentração dos componentes do lixiviado sofrer variação devida a diversos fatores, há alguns padrões na composição desta água residuária, inerentes ao próprio processo anaeróbio que ocorre nas células de aterramento de resíduos. Portanto, a composição de um lixiviado depende, também, da fase na qual a célula ou o aterro se encontram (EHRIG, 1989; RENOU et al., 2008).

O'Leary e Tchobanoglous (2002) compararam um aterro sanitário a um reator biológico cujas entradas são os resíduos sólidos e a água, e as saídas principais biogás e lixiviado. Os autores ainda adotaram a seguinte separação de fases para explicar as principais reações químicas e bioquímicas que ocorrem em aterros e que influenciam a composição do lixiviado:

I) ajuste inicial: logo que os resíduos sólidos são aterrados, a matéria orgânica biodegradável começa a sofrer decomposição, graças a micro-organismos originários, principalmente, do material utilizado como cobertura e dos próprios resíduos. Nesta fase, em função da presença de ar no interior das células do aterro, a decomposição biológica da matéria orgânica ocorre em condições aeróbias;

II) transição: trata-se de uma fase de curta duração. O oxigênio é eliminado e condições anaeróbias passam a predominar no interior das células do aterro. Micro-organismos facultativos e anaeróbios convertem a matéria orgânica a ácidos

orgânicos de cadeia curta e outros produtos intermediários. Se houver geração de lixiviado nesta fase, o seu pH diminuirá devido à presença de ácidos orgânicos e à elevada concentração de dióxido de carbono (CO_2). Nesta fase, o pH ácido poderá solubilizar metais presentes na massa de resíduos, os quais serão incorporados à composição do lixiviado;

III) fase ácida: nesta fase ocorrem reações de hidrólise da matéria orgânica, mediadas por micro-organismos facultativos e anaeróbios. Na hidrólise, substâncias orgânicas complexas constituintes dos resíduos, como os lipídeos, as proteínas e os polímeros, são degradadas a moléculas mais simples e assimiláveis por micro-organismos da etapa subsequente, a acidogênese. Na acidogênese, substâncias solúveis e as hidrolisadas são convertidas a ácidos orgânicos e outros compostos intermediários, havendo a geração de CO_2 e de pequena quantidade de hidrogênio gasoso (H_2). O pH do lixiviado diminui rapidamente e, devido à condição de acidez, pode ocorrer a solubilização de constituintes inorgânicos, incluindo metais, que atingem a concentração máxima no lixiviado. Como o lixiviado dissolve também os ácidos orgânicos produzidos na acidogênese, a sua condutividade, a demanda química de oxigênio (DQO) e a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) aumentam;

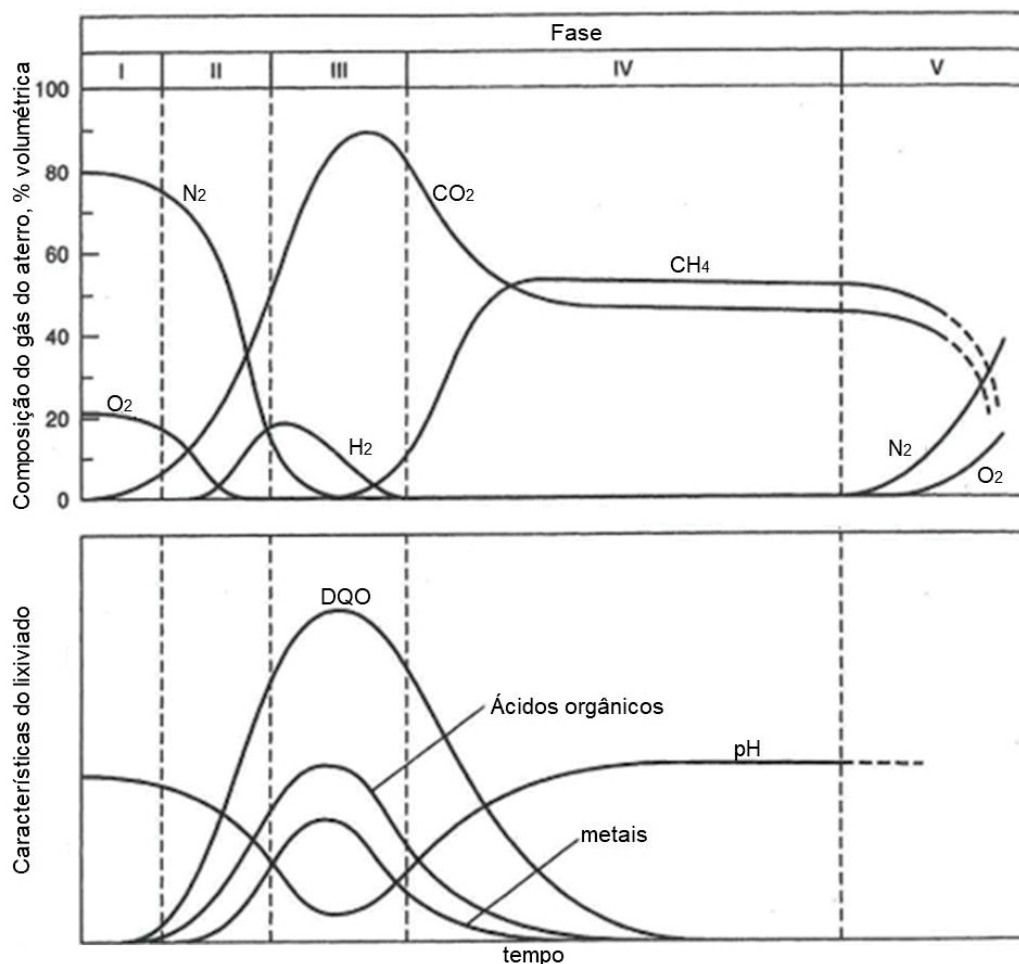
IV) fase metanogênica: nesta fase, as arqueas metanogênicas, micro-organismos estritamente anaeróbios, passam a predominar no interior das células de resíduos do aterro. Estes micro-organismos são responsáveis pela conversão do ácido acético, um intermediário metabólico, e do H_2 , ambos formados na fase ácida, a CO_2 e metano (CH_4). Devido a essa conversão, a concentração de ácidos orgânicos diminui e o pH do lixiviado aumenta, atingindo valores próximos à neutralidade. Com o pH mais básico, a solubilização de metais é reduzida, fazendo com que suas concentrações no lixiviado diminuam. Como parte da matéria orgânica, previamente metabolizada a ácidos orgânicos e a H_2 , deixa o interior das células do aterro na forma de biogás (constituído majoritariamente de CH_4 e CO_2), ocorre a diminuição da condutividade, da DQO e da DBO do lixiviado gerado;

V) maturação: nesta fase, praticamente toda a matéria orgânica facilmente biodegradável dos resíduos e do lixiviado foi convertida a CH_4 e a CO_2 . A velocidade de reação microbiana e a taxa de geração dos gases diminuem, e o lixiviado passa a ser composto, principalmente, por matéria orgânica recalcitrante.

Na FIGURA 2.1 são apresentados os perfis dos componentes do biogás e das características químicas do lixiviado ao longo das cinco fases. Apesar da

separação para fim didático, na prática, a transição entre as fases não é bem definida. As fases de um aterro, em geral, se sobrepõem e ocorrem simultaneamente (EHRIG, 1989).

FIGURA 2.1 – FASES DE UM ATERRO SANITÁRIO



FONTE: modificado de O'Leary e Tchobanoglous (2002)

2.2.2 Características gerais e composição dos lixiviados brasileiros

Devido a vários fatores, operacionais e de composição da massa de resíduos depositada em aterros sanitários, a composição do lixiviado é heterogênea e variável (EHRIG, 1989; KJELDSSEN et al., 2002; SOUTO, 2009; COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019). A vazão e a concentração dos componentes do lixiviado são influenciadas pela precipitação pluviométrica, pelo tipo de solo e pelo material de cobertura do aterro, pelas características do escoamento superficial na área do aterro, pela idade do aterro, pela composição gravimétrica dos resíduos aterrados,

entre outros fatores climáticos, hidrogeológicos e inerentes aos resíduos (EHRIG, 1989; KJELDSSEN et al., 2002; RENOU et al., 2008).

Em termos gerais, o lixiviado de aterro sanitário pode ser definido como uma solução aquosa de cor escura e odor forte, composta, principalmente, pelos quatro seguintes grupos de substâncias, presentes em concentrações variáveis (EHRIG, 1989; KJELDSSEN et al., 2002; RENOU et al., 2008):

1) matéria orgânica dissolvida: oriunda da decomposição da porção orgânica dos resíduos aterrados. Subdivide-se em duas frações: i) a biodegradável, constituída majoritariamente por ácidos orgânicos de cadeia curta, produtos do processo anaeróbio que ocorre no interior das células do aterro e ii) a recalcitrante, formada, principalmente, por ácidos húmicos e fúlvicos;

2) componentes inorgânicos em elevadas concentrações: nesta fração, estão presentes, em abundância, os íons cálcio (Ca^{+2}), magnésio (Mg^{+2}), sódio (Na^{+}), potássio (K^{+}), amônio (NH_4^{+}), ferro II (Fe^{+2}), manganês (Mn^{+2}), cloreto (Cl^{-}), sulfato (SO_4^{-2}), bicarbonato (HCO_3^{-}), fosfato (PO_4^{-3}), entre outros. O nitrogênio na forma de amônia livre não ionizada (NH_3) também está incluído neste grupo;

3) componentes inorgânicos em baixas concentrações: os principais representantes deste grupo são os íons de metais, como cádmio (Cd^{+2}), cromo trivalente (Cr^{+3}) e hexavalente (Cr^{+6}), cobre (Cu^{+2}), chumbo (Pb^{+2}), níquel (Ni^{+2}) e zinco (Zn^{+2}). Sua presença e concentração no lixiviado dependem do tipo de resíduo aterrado e da idade do aterro;

4) componentes orgânicos xenobióticos: como exemplos desta classe de substâncias de origem sintética, podem ser citados os hidrocarbonetos aromáticos, os fenóis, os pesticidas, entre outros.

Apesar da concentração de alguns parâmetros característicos do lixiviado variar grandemente, até mesmo para um único aterro sanitário, há similaridades que são, geralmente, ligadas aos padrões de consumo e descarte da população. Por exemplo, a matéria orgânica é a fração predominante na composição dos RSU brasileiros. Ao reunir dados acerca da composição gravimétrica dos RSU de cinco cidades brasileiras, cada uma pertencendo a uma região geográfica, Alfaia, Costa e Campos (2017) observaram que a percentagem de matéria orgânica variava de 52,0 a 57,2% da composição total dos resíduos sólidos nos municípios estudados.

Outra característica comum aos lixiviados brasileiros é a elevada concentração de nitrogênio, sobretudo nas formas amoniacal e orgânica (SOUTO,

2009; ROCHA, 2011; PRADO, 2018; RIETOW, 2018; BAETTKER, 2019; COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019). O nitrogênio presente em lixiviados de aterros sanitários de RSU tem sua principal fonte, assim como a matéria orgânica carbonácea, em restos de alimentos de origem vegetal ou animal.

Souto (2009), em extenso estudo acerca das características de lixiviados brasileiros, reuniu dados de 40 aterros sanitários, produzidos entre 1988 e 2008. Neste estudo, o autor separou os dados de caracterização dos lixiviados conforme a fase correspondente do aterro, ácida ou metanogênica. Por outro lado, Costa, Alfaia e Campos (2019) reuniram dados de lixiviados de nove aterros sanitários e de um aterro controlado, de nove Estados brasileiros. Apesar de contarem com menos dados em relação a Souto (2009), as autoras reuniram estudos publicados entre 2006 a 2016, o que permitiu uma comparação entre os lixiviados brasileiros para diferentes períodos. No QUADRO 2.1 são apresentados os dados reunidos por Souto (2009) e por Costa, Alfaia e Campos (2019), referentes a parâmetros físicos, químicos e biológicos de diferentes lixiviados brasileiros.

Das informações apresentadas no QUADRO 2.1, é possível observar a grande variabilidade da composição do lixiviado de aterros sanitários brasileiros, com acentuada amplitude entre os valores máximos e mínimos para a maioria dos parâmetros analisados. Também é possível observar, ao comparar os dados obtidos por Souto (2009) para as fases ácida e metanogênica, que a composição do lixiviado é, de fato, afetada pela idade do aterro e pela fase na qual o sistema se encontra.

2.2.3 Tecnologias aplicadas ao tratamento do lixiviado

Devido à sua composição variável, não há um tratamento único e universal que possa ser aplicado ao lixiviado de aterro sanitário, conforme afirmações de Renou e colaboradores (2008) e Costa, Alfaia e Campos (2019). Normalmente, o tratamento do lixiviado deve envolver a combinação de tratamentos de diferentes naturezas, como a biológica, física e/ou química (KENNEDY; LENTZ, 2000; RENOU et al., 2008; ZAYEN; SCHORIES; SAYADI, 2016; ZANICOTTI; POSSETTI – Org., 2018; COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019).

QUADRO 2.1 – VALORES MÁXIMOS E MÍNIMOS OBSERVADOS PARA OS PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO DE LIXIVIADOS BRASILEIROS

Parâmetro	Unidade	Souto (2009): Estudos de 1988 a 2009				Costa, Alfaia e Campos (2019): Estudos de 2006 a 2016			
		Fase ácida		Fase metanogênica		Sem distinção de fase			
		Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo		
pH	-	4,4	8,3	5,9	9,2	7,3	9,1		
Alcalinidade total	mg/L de CaCO ₃	170	32.000	125	20.200	143,3	10.824		
Turbidez	UNT	100	540	0,02	620	n. a.	n. a.		
Condutividade	µS/cm	230	45.000	100	45.000	n. a.	n. a.		
Demanda bioquímica de oxigênio	mg O ₂ /L	1	55.000	3	17.200	55	2.060		
Demanda química de oxigênio	mg O ₂ /L	90	100.000	20	35.000	768	7.373		
Nitrogênio total Kjeldahl	mg/L	1,7	3.000	0,6	5.000	n. a.	n. a.		
Nitrogênio amoniacal total	mg/L	0,07	2.000	0,03	3.000	153,6	2.185		
Fósforo total	mg/L	n. d.	260	n. d.	80	n. a.	n. a.		
Cloreto	mg/L	275	4.700	20	6.900	1.362	20.095		
Sólidos totais	mg/L	400	45.000	200	29.000	6.556	10.386		
Sólidos voláteis totais	mg/L	78	26.700	75	20.000	n. a.	n. a.		
Sólidos fixos totais	mg/L	40	28.400	100	17.000	n. a.	n. a.		
Sólidos suspensos totais	mg/L	10	7.000	7	12.400	n. a.	n. a.		
Ferro total	mg/L	n. d.	1.400	0,01	720	0,79	33		
Cádmio total	mg/L	n. d.	0,1	n. d.	0,6	n. d.	0,04		
Cobre	mg/L	n. d.	0,8	n. d.	2,9	0,06	1,16		
Cromo	mg/L	n. d.	1,2	n. d.	1,0	n. d.	0,33		
Manganês total	mg/L	n. d.	115	n. d.	30	n. a.	n. a.		
Níquel	mg/L	n. d.	6,5	n. d.	1,4	n. d.	0,47		
Zinco	mg/L	n. d.	27	n. d.	35	n. d.	0,45		
Chumbo total	mg/L	n. d.	1,5	n. d.	6,7	≤ 0,02	0,38		
Coliformes termotolerantes	NMP/100 mL	200	5 x 10 ⁷	n. d.	2 x 10 ⁸	n. a.	n. a.		

FONTE: adaptado de Souto (2009) e de Costa, Alfaia e Campos (2019)

NOTA: n. d.: não detectável; n. a.: não avaliado

Ehrig (1989), ao estudar a composição do lixiviado de 15 aterros alemães, apresentou a hipótese que a concentração de alguns componentes do lixiviado permanece aproximadamente constante, independentemente da idade e da fase em que se encontra o aterro. São eles: íons cloreto, sódio e potássio; alcalinidade; nitrogênio amoniacal; nitrogênio total; fósforo total; metais cádmio, cobalto, níquel, chumbo, cromo, cobre e mercúrio. A constância da concentração desses componentes no lixiviado ao longo do tempo indica que o processo biológico, em especial o anaeróbico, predominante no aterro, não é capaz de removê-los ou alterá-los. Logo, quando se projeta um sistema de tratamento para o lixiviado de aterro sanitário, é importante incluir etapas para a remoção desses componentes.

Os processos biológicos são recomendados para o tratamento de lixiviados ditos “jovens”, caracterizados por elevadas concentrações de ácidos orgânicos de cadeia curta, geralmente de fácil biodegradação (RENOU et al., 2008; COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019). Lixiviados estabilizados, ou “velhos”, normalmente apresentam concentrações elevadas de nitrogênio amoniacal e de compostos refratários, considerados empecilhos ao tratamento biológico. Nestes casos, recomenda-se a combinação de uma ou mais etapas físicas ou químicas de tratamento (ZANICOTTI; POSSETTI – Org., 2018).

No Brasil, as exigências mínimas que devem ser atendidas para a disposição de águas residuárias em corpos hídricos são estabelecidas pela Resolução CONAMA nº 430/2011. Os principais padrões desta Resolução, que em geral são desafiadores de se atingir para lixiviados de aterros sanitários, são apresentados no QUADRO 2.2. São também mostrados os potenciais efeitos associados ao não atendimento dos padrões, exemplos de processos utilizados para o tratamento do lixiviado e de autores que já empregaram as técnicas mencionadas.

QUADRO 2.2 – PRINCIPAIS PARÂMETROS QUÍMICOS DOS LIXIVIADOS E RESPECTIVOS PADRÕES DE LANÇAMENTO (continua)

Parâmetro	Possível efeito ambiental caso a concentração ultrapasse o padrão estabelecido	Padrão CONAMA 430/2011	Exemplos de processos que podem ser aplicados ao tratamento de lixiviado de aterro sanitário para atender ao padrão
Nitrogênio amoniacal	Eutrofização de corpos hídricos; depleção de oxigênio de corpos hídricos; amônia livre (NH ₃) pode ser tóxica a organismos aquáticos.	20 mg/L	Arraste da amônia por ar (<i>air stripping</i>) (SOUTO, 2009; RIETOW, 2018), adsorção do nitrogênio amoniacal (PRADO, 2018)

QUADRO 2.2 – PRINCIPAIS PARÂMETROS QUÍMICOS DOS LIXIVIADOS E RESPECTIVOS PADRÕES DE LANÇAMENTO (conclusão)

Parâmetro	Possível efeito ambiental caso a concentração extrapole o padrão estabelecido	Padrão CONAMA 430/2011	Exemplos de processos que podem ser aplicados ao tratamento de lixiviado de aterro sanitário para atender ao padrão
DBO ₅ (parâmetro indicador da concentração de matéria orgânica)	Depleção de oxigênio de corpos hídricos, podendo levar ao sufocamento e à morte de organismos aquáticos.	Remoção mínima de 60%	Processos biológicos aeróbios e anaeróbios (ROCHA, 2011; MORAIS, 2016; CONTRERA et al., 2018), co-tratamento com esgoto sanitário (BAETTKER, 2019)
Cádmio total	Íons de metais pesados, quando dissolvidos e absorvidos por organismos aquáticos, podem exercer efeitos tóxicos agudos ou crônicos. Pode ocorrer ainda o acúmulo de metais ao longo da teia alimentar, contaminando outros animais e até mesmo humanos.	0,2 mg Cd/L	Adsorção, precipitação com agentes químicos, reações de oxirredução (AMORIM et al., 2009)
Chumbo total		0,5 mg Pb/L	
Cobre dissolvido		1,0 mg Cu/L	
Cromo hexavalente		0,1 mg Cr ⁺⁶ /L	
Cromo trivalente		1,0 mg Cr ⁺³ /L	
Ferro dissolvido		15,0 mg Fe/L	
Manganês dissolvido		1,0 mg Mn/L	
Mercurio total		0,01 mg Hg/L	
Níquel total		2,0 mg Ni/L	
Zinco total		5,0 mg Zn/L	

FONTE: adaptado a partir de CONAMA (2011) e demais referências citadas

2.2.3.1 Tratamentos biológicos aplicados ao lixiviado de aterro sanitário

Além de atender às exigências legais para o lançamento de efluentes em corpos hídricos, o tratamento biológico de lixiviado de aterro sanitário apresenta outros desafios. Por exemplo, em aterros considerados “velhos”, grande parte da matéria orgânica biodegradável do lixiviado foi estabilizada, predominando material orgânico recalcitrante (EHRIG, 1989; KJELDSEN et al., 2002). Nestes casos, em função da pequena concentração de matéria orgânica biodegradável remanescente no lixiviado, o tratamento biológico pode ser comprometido.

Conforme apresentado no QUADRO 2.1, os lixiviados de aterros sanitários brasileiros tendem a apresentar elevada condutividade, parâmetro que indica a presença de elevadas concentrações de sais dissolvidos e íons inorgânicos. Os íons de sais dissolvidos também podem, por vez, limitar o tratamento biológico (MCCARTY; MCKINNEY, 1961a; PARKIN et al., 1983).

Para o tratamento biológico anaeróbio, assim como para algumas configurações do processo aeróbio, outro fator ao qual se atribui elevada interferência sobre a microbiota é a concentração de nitrogênio amoniacal.

Processos anaeróbios não são capazes de remover eficientemente o nitrogênio amoniacal do lixiviado. Além disso, o nitrogênio amoniacal pode exercer efeito tóxico sobre a microbiota do tratamento anaeróbio (ALBERTSON, 1961; MCCARTY, 1964c; PARKIN et al., 1983).

Apesar das limitações, existem informações sobre a aplicação de processos biológicos, aeróbios ou anaeróbios, para o tratamento de lixiviado de aterro sanitário no Brasil. Moraes (2016), por exemplo, avaliando três reatores anaeróbios de bancada aplicados ao tratamento de lixiviado diluído, obteve eficiência de remoção da matéria orgânica, estimada a partir da redução da concentração da DQO, entre 60 e 70%. Rocha, Braga e Braga (2017) obtiveram eficiência de redução da concentração de DQO de 60%, para um reator anaeróbio em bateladas sequenciais em escala de bancada. Contrera e colaboradores (2018), ao operarem um reator anaeróbio com biofilme em bateladas sequenciais, em escala piloto, reportaram eficiência aproximada de 70% na remoção de DQO do lixiviado. Já Baettker (2019), em pesquisa desenvolvida para avaliar o tratamento biológico anaeróbio de esgoto sanitário, codisposto com lixiviado de aterro sanitário, em reator UASB, em escala piloto, obteve eficiência de redução da concentração de DQO de 49%, para uma proporção de 95% esgoto sanitário e 5% lixiviado (v/v).

Os sistemas de tratamento biológico de lixiviado também são comumente aplicados em escala plena no Brasil. Ao avaliar 12 aterros, de seis estados brasileiros, Costa, Alfaia e Campos (2019) observaram que 10 deles contavam com ao menos uma etapa biológica para o tratamento do lixiviado. Ainda segundo estas autoras, os sistemas biológicos mais utilizados eram os lodos ativados (aeróbio) e as lagoas de estabilização, anaeróbias, facultativas e de maturação. Entretanto, em todos os aterros estudados, etapas de tratamento físico e/ou químico estavam associadas ao sistema biológico, ressaltando a necessidade de combinar processos para a atenuação do potencial poluidor do lixiviado.

Ainda que apenas o tratamento biológico não seja capaz de eliminar o potencial poluidor do lixiviado de aterro sanitário, esta é uma alternativa de baixo custo de implantação e manutenção. O processo biológico pode, inclusive, ser combinado a etapas de pré- ou pós-tratamento físico ou químico do lixiviado, reduzindo os custos gerais (KENNEDY; LENTZ, 2000; ZAYEN; SCHORIES; SAYADI, 2016). Assim, à medida que os principais fatores que impactam o

tratamento biológico do lixiviado de aterro sanitário forem conhecidos, o processo poderá ser otimizado, apresentando maior eficiência e melhor estabilidade.

2.3 PRINCÍPIOS DO TRATAMENTO ANAERÓBIO

O processo anaeróbio consiste em uma sucessão de etapas de conversão da matéria orgânica a biogás, este composto majoritariamente por metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2), a água e a células microbianas, que são denominadas conjuntamente lodo. Para o sucesso da degradação da matéria orgânica, ao menos quatro grupos microbianos são requeridos, cada qual responsável pela geração de metabólitos que serão utilizados pelo grupo que o sucederá. A interação e o equilíbrio entre os grupos microbianos, membros de dois reinos distintos, *Bacteria* e *Archaea*, são essenciais para o desenvolvimento adequado do processo anaeróbio.

2.3.1 Microbiota do tratamento anaeróbio

A diversidade e a composição da comunidade microbiana de sistemas anaeróbios podem ser afetadas por parâmetros operacionais, temperatura e carga orgânica, por exemplo, e ambientais, como a concentração de nitrogênio amoniacal, a matéria orgânica e a alcalinidade. Embora o microbioma responsável pelo processo anaeróbio não seja ainda completamente conhecido, haja vista a grande percentagem de espécies não identificadas em diferentes trabalhos, há grupos taxonômicos microbianos presentes na maioria dos sistemas anaeróbios, independentemente das condições operacionais e ambientais (DE FRANCISCI et al., 2015; DE VRIEZE et al., 2015; DE VRIEZE et al., 2016; GOUX et al., 2016; HAO et al., 2016; TREU et al., 2016; DE JONGE et al., 2017; JU; LAU; ZHANG, 2017; VENKITESHWARAN et al., 2017; ZIGANSHINA et al., 2017; BONK et al., 2018; BRAZ et al., 2018; SUÁREZ et al., 2018; NIERYCHLO et al., 2019). Os principais deles são apresentados a seguir, e foram exemplificados a partir dos estudos realizados pelos autores acima citados.

2.3.1.1 Bactérias hidrolíticas

O primeiro estágio do processo anaeróbio é conduzido por bactérias anaeróbias e facultativas. Nesta etapa, enzimas hidrolíticas extracelulares, secretadas pelos micro-organismos, são responsáveis pela degradação de moléculas orgânicas complexas, como polissacarídeos, lipídeos e proteínas, em compostos mais simples, solúveis e assimiláveis pelas bactérias atuantes na fase seguinte, acidogênica. Exemplos de bactérias hidrolíticas comumente identificadas em sistemas anaeróbios são as pertencentes aos filos *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* e *Firmicutes*; às classes *Bacilli*, *Bacteroidia*, *Clostridia*, *Gammaproteobacteria* e *Mollicutes*; às ordens *Bacteroidales*, *Clostridiales* e *Flavobacteriales*; e aos gêneros *Anaerotruncus*, *Bacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterococcus* e *Ruminococcus*.

2.3.1.2 Bactérias fermentativas acidogênicas

As bactérias acidogênicas, tanto facultativas como anaeróbias, são responsáveis pela conversão das substâncias degradadas pelas bactérias hidrolíticas a acetato, H₂, CO₂, álcoois (etanol e metanol), cetonas e ácidos orgânicos de cadeia curta, sobretudo propiônico e butírico. Assim como as hidrolíticas, as bactérias acidogênicas compõem um grupo heterogêneo. Nesta etapa, apesar de serem produzidas substâncias de vários grupos funcionais, as bactérias envolvidas são denominadas acidogênicas devido à predominância e importância subsequente dos ácidos orgânicos de cadeia curta.

Exemplos de grupos taxonômicos bacterianos atuantes nessa etapa do processo anaeróbio são os filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi* e *Proteobacteria*; e os gêneros *Acetobacterium*, *Acetivibrio*, *Anaerolinea*, *Bacillus*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Butyrivibrio*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Flexilinea*, *Gelria*, *Gemmobacter*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Rhodobacter*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*.

2.3.1.3 Bactérias sintróficas acetogênicas e oxidadoras de acetato

As bactérias sintróficas são responsáveis pela conversão dos ácidos orgânicos de cadeia curta e dos álcoois, produzidos na acidogênese, principalmente

a acetato, H_2 , CO_2 e íon formiato. Nesta etapa, uma relação sintrófica obrigatória é estabelecida entre as bactérias envolvidas e as arqueas metanogênicas, pois as reações da acetogênese e da oxidação do acetato são endergônicas, isto é, desfavoráveis energeticamente e não espontâneas. As bactérias sintróficas acetogênicas oxidam os produtos da acidogênese a acetato, produzindo substrato para a metanogênese acetoclástica. Por outro lado, bactérias sintróficas são também importantes para a metanogênese hidrogenotrófica, visto que oxidam acetato a CO_2 . Para ambas as reações, há a produção concomitante de H_2 , e o processo anaeróbio só tem continuidade se o H_2 for removido do meio pelas arqueas metanogênicas hidrogenotróficas. Durante a acetogênese, o acetato produzido pode também inibir a reação e a continuidade do processo anaeróbio caso acumule no meio reacional e não seja utilizado pelas arqueas metanogênicas acetoclásticas.

Representantes das bactérias acetogênicas encontradas em sistemas anaeróbios são os micro-organismos dos filos *Firmicutes* e *Synergistetes* e dos gêneros *Alkaliphilus*, *Escherichia*, *Pelotomaculum*, *Ruminococcus*, *Syntrophobacter* e *Syntrophomonas*. Já exemplos de bactérias oxidadoras de acetato são as pertencentes aos gêneros *Clostridium* e *Carboxidothermus*.

2.3.1.4 Arqueas metanogênicas

As arqueas metanogênicas, micro-organismos do domínio *Archaea*, estritamente anaeróbias, são especializadas no uso de substratos e restringem-se à degradação de alguns poucos compostos orgânicos e inorgânicos relativamente simples, entre os quais muitos produtos de reações metabólicas de outros micro-organismos (BARKER, 1956; GARRITY; HOLT, 2001). São classificadas em várias espécies e ocupam diferentes habitats, mas, ainda assim, acredita-se que sua diversidade seja subestimada, com grupos taxonômicos ainda a serem descritos (GARRITY; HOLT, 2001).

Cada espécie utiliza apenas um ou poucos substratos específicos. Logo, para a degradação de resíduos complexos, é necessária uma comunidade composta por diferentes micro-organismos metanogênicos. Estudos que buscam identificar e quantificar as comunidades de arqueas metanogênicas em sistemas de tratamento anaeróbio têm mostrado que há várias espécies pertencentes, principalmente, a três ordens: *Methanosarcinales*, *Methanomicrobiales* e *Methanobacteriales* (MACLEOD;

GUIOT; COSTERTON, 1990; LEE et al., 2009; REITSCHULER; LINS; ILLMER, 2014). A eficiência do tratamento anaeróbio de um resíduo pode inclusive ser correlacionada à dinâmica populacional das arqueas metanogênicas (LEE et al., 2009; BOCHER et al., 2015; DE VRIEZE et al., 2015; HAO et al., 2016), apesar de serem a minoria entre a população microbiana envolvida no processo.

Na metanogênese, os produtos metabólicos das bactérias acidogênicas e sintróficas são convertidos a CH_4 pelas arqueas metanogênicas. As arqueas metanogênicas são os únicos organismos conhecidos capazes de produzir metano, e o seu metabolismo está associado às reações de clivagem do ácido acético/acetato, redução do dióxido de carbono e redução de grupos metílicos.

a) Quebra do ácido acético/acetato

Dependendo do substrato alimentado ao sistema anaeróbio, a percentagem de CH_4 total produzido a partir do ácido acético varia entre 60 e 80% (JERIS; MCCARTY, 1965). A reação de quebra do ácido acético é realizada somente por uma ordem de arqueas metanogênicas, a *Methanosarcinales*, também denominadas acetoclásticas (GARRITY; HOLT, 2001; MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004). A ordem *Methanosarcinales* é composta por duas famílias, *Methanosarcinaceae* e *Methanosaetaceae*, consideradas de grande relevância para o tratamento anaeróbio devido à participação na produção do CH_4 via quebra do ácido acético/acetato.

b) Redução do dióxido de carbono a metano

Nesta reação, realizada pela maioria das arqueas metanogênicas conhecidas, o H_2 serve como doador de elétrons. Muitas arqueas metanogênicas têm ainda a capacidade de utilizar o ácido fórmico/formiato como doador de elétrons, gerando CH_4 como produto final a partir de uma série de complexas reações bioquímicas. Por outro lado, algumas podem substituir o H_2 como doador de elétrons por álcoois secundários ou piruvato, enquanto um pequeno número pode utilizar etanol para essa finalidade. Até o momento, são também conhecidos dois gêneros de arqueas metanogênicas, *Methanosarcina* e *Methanothermobacter*, capazes de produzir CH_4 a partir da oxidação do monóxido de carbono (CO).

A reação de redução do CO_2 permite classificar as arqueas metanogênicas produtoras de CH_4 como hidrogenotróficas. Este grupo é composto por cinco ordens: *Methanobacteriales*, *Methanocellales*, *Methanococcales*, *Methanomicrobiales* e *Methanopyrales*. Alguns representantes da ordem *Methanosarcinales*, especificamente do gênero *Methanosarcina*, são também hidrogenotróficos.

Entre os hidrogenotróficos, a ordem *Methanopyrales* é pouco comum em processos anaeróbios de tratamento de resíduos, pois requer temperaturas superiores a 80 °C para o seu crescimento. A ordem *Methanococcales* também é raramente detectada no tratamento anaeróbio, devido à sua demanda por elevada concentração salina do meio (GARRITY; HOLT, 2001). A ordem *Methanocellales* foi identificada mais recentemente em comparação às demais (SAKAI et al., 2008), havendo ainda pouca informação a respeito da sua fisiologia.

c) Redução de grupos metílicos (via metilotrófica)

Organismos metanogênicos metilotróficos são encontrados nas ordens *Methanosarcinales*; *Methanobacteriales*, apenas o gênero *Methanosphaera*; e *Methanomassiliicoccales*, esta última identificada apenas em 2012 (PAUL et al., 2012; IINO et al., 2013). Em reações metilotróficas, o CH_4 é formado a partir da redução de compostos que contêm grupos metil como, por exemplo, metanol, aminas metiladas (metilamina, dimetilamina, trimetilamina e tetraetilamônio) e compostos metilados de enxofre (metanotiol e dimetilsulfeto) (GARRITY; HOLT, 2001; MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004).

Na FIGURA 2.2 é apresentada parte dos grupos taxonômicos das arqueas metanogênicas, com destaque para os micro-organismos normalmente encontrados em sistemas de tratamento anaeróbio de águas residuárias e para os quais já há informações filogenéticas consolidadas. Por estes motivos, os grupos destacados são considerados os mais relevantes para o tratamento anaeróbio atualmente.

2.3.2 Interferentes do processo anaeróbio

Quando comparado ao processo aeróbio de tratamento de resíduos, o anaeróbio apresenta as seguintes vantagens: a) menor produção de lodo, reduzindo a dificuldade associada à disposição e/ou tratamento do resíduo gerado; b) menor consumo energético, pois não requer equipamentos para a aeração; c) aplicação de maiores cargas orgânicas, levando à maior compacidade dos sistemas associados; d) baixa necessidade de adição de nutrientes, como nitrogênio e fósforo; e e) geração de biogás, mais especialmente do metano, com elevado poder calorífico e que pode ser utilizado como fonte alternativa de energia (MCCARTY, 1964a).

Apesar dos aspectos positivos do processo anaeróbio, são reportadas limitações à sua aplicação para o tratamento de águas residuárias. Entre elas, a mais difundida é a susceptibilidade dos micro-organismos anaeróbios, sobretudo das arqueas metanogênicas, a vários interferentes. Os principais deles reportados na literatura científica são apresentados a seguir.

A composição da comunidade microbiana é um fator crucial para o bom funcionamento de um sistema anaeróbio, especialmente durante a sua partida. Se o inóculo não contém os micro-organismos ativos e adaptados à degradação de um substrato, o tempo de partida pode alongar-se por semanas ou meses (MCCARTY, 1964a; ANNACHATRE, 1996; OZ et al., 2012; CHERNICHARO, 2016). Portanto, a qualidade e a quantidade de inóculo e as condições adotadas na partida do sistema são fatores que podem interferir no desempenho do processo anaeróbio.

Estudos realizados com culturas microbianas puras e/ou substratos bem definidos mostraram que a quantidade de biogás e a proporção de metano na sua composição, considerados parâmetros indicadores do desempenho do sistema anaeróbio, dependem da composição do substrato degradado (BUSWELL; BORUFF, 1932; BARKER, 1956). Trabalhos mais recentes, como os de Lee e colaboradores (2009) e de De Francisci e colaboradores (2015), que utilizaram culturas mistas e/ou resíduos complexos, têm reforçado esta observação. No entanto, além da qualidade do substrato, a quantidade utilizada também pode afetar o sistema anaeróbio.

A quantidade de substrato que é alimentada a um sistema biológico de tratamento operado em regime contínuo ou semicontínuo é geralmente expressa como carga orgânica volumétrica (COV). A COV é dada pela multiplicação entre a

concentração de matéria orgânica do substrato alimentado ao sistema, usualmente expressa em termos de DQO, e a vazão diária em relação ao volume do reator.

Dependendo da concentração de matéria orgânica da água residuária a ser tratada e da configuração do sistema anaeróbio, carga orgânica volumétrica (COV) igual a $40 \frac{\text{kg DQO}}{\text{m}^3 \cdot \text{dia}}$ ou superior pode ser suportada (TCHOBANOGLIOUS et al., 2016). Porém, para o tratamento de lixiviado de aterro sanitário, é frequente a aplicação de COV mais baixas. Exemplos de configurações de sistemas anaeróbios adotadas em outras pesquisas que visaram o tratamento de lixiviado de aterro sanitário são: reatores UASB de bancada em regime contínuo, submetidos a COVs entre 0,6 a $19,7 \frac{\text{kg DQO}}{\text{m}^3 \cdot \text{dia}}$ e tempos de detenção hidráulica (TDH) de 12 h, 18 h e 24 h (KENNEDY; LENTZ, 2000); reatores de bancada em bateladas sequenciais, submetidos às COVs de $0,5 \frac{\text{kg DQO}}{\text{m}^3 \cdot \text{dia}}$, com TDH variável entre 7 e 14 dias (MORAIS, 2016), e de $2,0 \frac{\text{kg DQO}}{\text{m}^3 \cdot \text{dia}}$, para TDH de 5 dias (ROCHA; BRAGA; BRAGA, 2017); e reator anaeróbio de leito fixo e fluxo ascendente, em escala piloto, operado com COVs entre 1,0 e $3,3 \frac{\text{kg DQO}}{\text{m}^3 \cdot \text{dia}}$ e TDH de 4,5 dias (ZAYEN; SCHORIES; SAYADI, 2016). Todos os autores reportaram, para estas condições operacionais, eficiências de redução de DQO superiores a 60%.

A alimentação de cargas orgânicas elevadas, ou mesmo o aumento abrupto da COV em um sistema operante, requer maiores períodos para a adaptação prévia da microbiota anaeróbia, assim como quantidade suficiente de micro-organismos aptos à degradação do substrato. Entre as principais causas de falhas do processo anaeróbio podem ser citados os choques devidos à alimentação de cargas orgânicas a um sistema que não dispunha de microbiota aclimatada ou em concentração suficiente para suportá-las (KENNEDY; LENTZ, 2000; REGUEIRO; LEMA; CARBALLA, 2015; ESLAMI et al., 2018; BRAZ et al., 2018; BRAZ et al., 2019), levando ao acúmulo de ácidos orgânicos no meio reacional.

Um dos indicadores mais importantes de desequilíbrio do processo anaeróbio é o aumento da concentração de ácidos orgânicos de cadeia curta. Segundo Barker (1956), quando a concentração de ácidos orgânicos de cadeia curta supera a faixa de 2.000 a 3.000 mg/L, a produção de metano pode ser inibida. Braz e colaboradores (2018) e Zhang e colaboradores (2018), por exemplo, observaram forte correlação entre o acúmulo de ácidos orgânicos de cadeia curta (ácidos

acético, propiônico e butírico) no meio reacional e a diminuição da atividade metanogênica do lodo anaeróbico. Além da concentração excessiva de ácidos orgânicos, outro fator ao qual se atribui efeito negativo sobre o processo anaeróbico é o potencial hidrogeniônico (pH).

As arqueas metanogênicas, consideradas os micro-organismos mais sensíveis do processo anaeróbico, são metabolicamente mais ativas em uma faixa de pH entre 6,4 e 7,2. Para pH acima de 8 e abaixo de 6, a taxa de crescimento das arqueas metanogênicas pode diminuir rapidamente (BARKER, 1956; ALBERTSON, 1961). Outro fator de influência sobre os organismos metanogênicos, de acordo com Barker (1956), é a temperatura: a faixa ótima de temperatura para o crescimento da maioria das arqueas metanogênicas é a mesofílica, entre 30 a 35 °C (MCCARTY, 1964b; GARRITY; HOLT, 2001).

Outro fator interferente no processo anaeróbico é a concentração de nitrogênio amoniacal (ALBERTSON, 1961; MCCARTY; MCKINNEY, 1961a; MCCARTY, 1964c; MELBINGER; DONNELLON; HERMAN, 1971; VAN VELSEN, 1979; LEE; HWANG, 2019). Em sistemas anaeróbios de tratamento de águas residuárias, o nitrogênio amoniacal total (NAT) é formado principalmente a partir da degradação de proteínas. Pode estar presente na forma de íon amônio (NH_4^+) ou como amônia livre (NH_3), dependendo do pH do meio e da temperatura. Em pH inferior a 7,2, o nitrogênio amoniacal total em elevadas concentrações pode ser tóxico aos micro-organismos devido, sobretudo, à predominância do íon amônio em relação à amônia livre. Por outro lado, em pH próximo ou superior a 8, a amônia passa a predominar e, dependendo da concentração, exercer efeito inibitório.

Também pode ser atribuído efeito inibidor ou tóxico a sais, sobretudo devido aos seus cátions (MCCARTY; MCKINNEY, 1961a; MCCARTY, 1964c; LEE; HWANG, 2019). Entre eles, podem ser destacados os alcalinos, Na^+ e K^+ , e os alcalinos terrosos, Ca^{+2} e Mg^{+2} . Quando há mais de um desses cátions presentes, a interação entre eles pode estar associada a efeitos complexos sobre o sistema anaeróbico. Estes cátions podem agir tanto de forma sinérgica como antagônica (MCCARTY; MCKINNEY, 1961a; MCCARTY, 1964c).

Outras substâncias, tanto orgânicas como inorgânicas, também podem estar associadas à interferência negativa sobre o processo anaeróbico. Entre elas, as inorgânicas mais notáveis são o íon sulfeto (S^{2-}) e os metais, principalmente o cobre, o zinco, o níquel e cromo hexavalente (MCCARTY, 1964c). Entre as substâncias

orgânicas que podem inibir o processo anaeróbio, figuram os solventes, os álcoois, os ácidos orgânicos de cadeia longa, entre outros.

Além do excesso de certos componentes, a falta de outros também pode exercer efeito negativo sobre o processo anaeróbio. A falha de muitos sistemas anaeróbios já foi atribuída à falta de nutrientes para a microbiota, e não à presença de interferentes (SPEECE, 1983). Além dos macronutrientes carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre, outros nutrientes que podem favorecer o crescimento dos micro-organismos anaeróbios são ferro, cobalto e níquel (SPEECE, 1983).

No QUADRO 2.3 são apresentados os principais interferentes no processo anaeróbio, bem como os valores a partir dos quais foi observada a inibição.

Apesar de diversos interferentes ao processo anaeróbio terem sido reportados, os micro-organismos geralmente apresentam capacidade de aclimação e adaptação (MCCARTY, 1964c). Embora o efeito inibitório dos interferentes do processo anaeróbio possa ser minimizado por meio da mudança de condições operacionais, como, por exemplo, a diluição do substrato ou a aplicação de cargas orgânicas menores, a aclimação da microbiota é um dos processos mais simples de se realizar, além de envolver menores custos, conforme sugerido por Tian e colaboradores (2018).

A maior tolerância ao interferente e até mesmo a recuperação da produção de biogás pelo sistema anaeróbio após uma perturbação, decorrentes da aclimação da microbiota anaeróbia, foram relatadas, por exemplo, para sobrecargas orgânicas (DE VRIEZE; VERSTRAETE; BOON, 2013; REGUEIRO; LEMA; CARBALLA, 2015; BRAZ et al., 2019), para o nitrogênio amoniacal (VAN VELSEN, 1979; PARKIN et al., 1983; DE VRIEZE; VERSTRAETE; BOON, 2013; DE JONGE et al., 2017; BONK et al., 2018; CONTRERA et al., 2018; PARK et al., 2018; TIAN et al., 2018), amônia livre (CONTRERA et al., 2018), cátions (MCCARTY; MCKINNEY, 1961a), sulfeto (PARKIN et al., 1983; DE JONGE et al., 2017), níquel (PARKIN et al., 1983) e ácidos orgânicos de cadeia curta (MCCARTY; MCKINNEY, 1961b; DE JONGE et al., 2017). Estes resultados ressaltam a importância de uma etapa de aclimação prévia e gradual da microbiota ao substrato que se deseja tratar por processo anaeróbio.

QUADRO 2.3 – PRINCIPAIS INTERFERENTES RELATADOS DO PROCESSO ANAERÓBIO

Interferente	Referência	Faixa em que foi observada a interferência
Qualidade e quantidade de lodo de inóculo	McCarty (1964a); Annachhatre (1996); Oz et al. (2012)	Apesar de não haver consenso acerca da concentração ideal de inóculo, o lodo deve conter populações microbianas aptas à degradação do substrato. Concentrações baixas de micro-organismos especializados podem levar ao mau desempenho do processo anaeróbico em longo prazo ou a tempos prolongados de partida
Carga orgânica volumétrica	McCarty (1964a); Regueiro, Lema e Carballa (2015); Braz et al. (2019)	Depende da quantidade e do tipo de micro-organismos adaptados à degradação da matéria orgânica. Cargas orgânicas volumétricas elevadas ou variadas bruscamente (cargas de choque) podem levar a falhas ou à ineficiência do processo anaeróbico
Concentração de ácidos orgânicos de cadeia curta	Barker (1956)	$\geq 2.000 - 3.000 \text{ mg/L}$
pH	Barker (1956); McCarty (1964a)	≤ 6 ou ≥ 8
Temperatura	Barker (1956); McCarty (1964b); Speece (1985)	$<30^\circ\text{C}$ ou $>35^\circ\text{C}$ (para processos mesofílicos); variação de temperatura $> 2^\circ\text{C}$
Oxigênio dissolvido	McCarty (1964b); Speece (1985)	Baixas concentrações já podem ser inibitórias
Na^+	McCarty (1964c)	$> 3.500 \text{ mg/L}^{(1)}$
K^+	McCarty (1964c)	$> 2.500 \text{ mg/L}^{(1)}$
Ca^{+2}	McCarty (1964c)	$> 2.500 \text{ mg/L}^{(1)}$
Mg^{+2}	McCarty (1964c)	$> 1.500 \text{ mg/L}^{(1)}$
Nitrogênio amoniacal total	Albertson (1961); McCarty (1964c); Parkin et al. (1983)	$>1.500 - 3.000 \text{ mg/L}$, para pH $> 7,4$
	McCarty (1964c)	$> 3.000 \text{ mg/L}$, independentemente do pH do meio
S^{-2}	McCarty (1964c); Speece (1983)	$> 200 \text{ mg/L}$
Metais	McCarty (1964c)	Baixas concentrações já podem ser inibitórias. Porém, a concentração de metais pesados que pode ser tolerada depende da concentração de sulfeto disponível
Relação DQO/N/P ⁽²⁾	Annachhatre (1996)	A relação máxima deve ser mantida entre: 300/5/1 (durante a partida); 600/5/1 (para sistemas contínuos); Relações fora desses valores podem levar ao mau funcionamento do processo anaeróbico
Micronutrientes (ferro, cobalto, níquel, selênio, molibdênio)	Speece (1983, 1985)	São necessárias quantidades traço desses elementos. Ausência total ou concentrações muito baixas podem interferir negativamente no desempenho do processo

FONTE: adaptado das referências citadas

NOTA: (1) concentrações a partir das quais se observa efeito moderadamente inibitório, que pode ser revertido mediante aclimação da microbiota; (2) DQO: demanda química de oxigênio; N: nitrogênio, na forma amoniacal; P: fósforo

Além de um inóculo que contenha micro-organismos aclimatados às condições operacionais e ambientais, foco desta pesquisa, o tratamento bem-sucedido de águas residuárias por processo anaeróbio depende, em grande medida, do controle de variáveis físicas, químicas e biológicas dos sistemas associados. Esse controle requer, por vez, a seleção de indicadores e métodos adequados para a análise do comportamento dos sistemas, que deverão ser avaliados a fim de garantir a estabilidade e eficiência do tratamento anaeróbio.

2.3.3 Bioensaios aplicáveis aos processos anaeróbios

Ao longo do tempo, foram desenvolvidos métodos que buscam tornar mais exato o controle do processo anaeróbio. Entre eles, há alguns bioensaios, que se aplicam tanto à avaliação da atividade da microbiota quanto do sistema anaeróbio de forma geral.

Um bioensaio é um procedimento controlado que avalia a eficiência, a viabilidade e o comportamento de um sistema biológico. Os principais bioensaios aplicados aos processos anaeróbios de tratamento de águas residuárias são descritos a seguir.

2.3.3.1 Atividade metanogênica específica (AME)

A atividade metanogênica específica (AME) corresponde à taxa máxima de produção de metano por um lodo anaeróbio. A AME tem sido utilizada como ferramenta de controle operacional de sistemas anaeróbios de tratamento de resíduos sólidos e de águas residuárias, pois reflete a eficiência da população microbiana para converter matéria orgânica a metano (AQUINO et al., 2007; SOUTO et al., 2010; CHERNICHARO, 2016). Embora seja muito utilizada, não há um protocolo único para a determinação da AME, como afirmaram Aquino e colaboradores (2007), Souto e colaboradores (2010) e Chernicharo (2016).

O resultado de AME pode ser influenciado pelas condições experimentais utilizadas no ensaio. De acordo com Souto e colaboradores (2010), a relação alimento/micro-organismos (A/M), isto é, a relação entre a concentração de substrato e a de lodo inoculado, foi a condição experimental que influenciou mais acentuadamente o resultado da AME. Ainda segundo estes autores, outros

parâmetros que poderiam ter influenciado a AME foram a temperatura de realização do ensaio, o tipo de substrato e a adição de nutrientes ao sistema.

Dependendo do substrato escolhido, o resultado para a AME pode não refletir o comportamento geral do sistema anaeróbio. Normalmente, o substrato utilizado é uma mistura de ácidos orgânicos de cadeia curta ou glicose (AQUINO et al., 2007; CHERNICHARO, 2016), ambas de fácil biodegradabilidade. Entretanto, a atividade microbiana de degradação da matéria orgânica pode não ser mantida quando o lodo for exposto a substratos mais complexos ou a condições ambientais não controladas e diferentes das utilizadas no ensaio da AME. Portanto, outros bioensaios que permitem avaliar o comportamento de um sistema anaeróbio quanto ao tratamento de uma água residuária complexa, como, por exemplo, a DQO inerte e a biodegradabilidade anaeróbia, podem ser utilizados em complementação à AME.

2.3.3.2 Demanda Química de Oxigênio solúvel inerte – DQO inerte

A demanda química de oxigênio (DQO) é um parâmetro comumente utilizado para caracterizar uma água residuária quanto à concentração de matéria orgânica. É, inclusive, aplicada na modelagem da cinética de processos biológicos e na definição de estratégias de operação de sistemas de tratamento (GERMIRLI; ORHON; ARTAN, 1991). Entretanto, a DQO total não permite diferenciar entre matéria orgânica biodegradável e recalcitrante, ou inerte, que deixa o tratamento biológico sem sofrer modificação. A utilização da DQO total como parâmetro único para avaliar a tratabilidade biológica de resíduos pode, portanto, levar à interpretação questionável dos resultados (GERMIRLI; ORHON; ARTAN, 1991).

Em 1991, Germirli, Orhon e Artan propuseram um método simples para a determinação da fração recalcitrante da matéria orgânica solúvel de uma água residuária. De acordo com o método, dois sistemas biológicos são operados paralelamente. Um contém a água residuária em análise e, o outro, uma solução de glicose. A solução de glicose possibilita subtrair os produtos microbianos do cálculo da DQO solúvel inerte da água residuária, limitação dos métodos mais antigos. O perfil de degradação da DQO dos dois sistemas é monitorado ao longo do tempo, até que ambos atinjam a DQO mínima, ou DQO residual. A DQO solúvel inerte do resíduo é, então, calculada pela Equação 2.1.

$$\text{DQO}_{\text{solúvel inerte do lixiviado}} = \text{DQO}_{\text{residual do frasco que contém o lixiviado}} - \text{DQO}_{\text{residual do frasco que contém a solução de glicose}} \quad (2.1)$$

Apesar da simplicidade, os autores apontaram limitações para o método, tendo sido sugerido que a origem do lodo e a sua aclimação prévia à água residuária podem influenciar o resultado da DQO solúvel inerte. Além disso, também existe a possibilidade de haver influência da quantidade de micro-organismos adicionados aos reatores e da concentração inicial do substrato.

2.3.3.3 Biodegradabilidade anaeróbia

A biodegradabilidade anaeróbia pode ser entendida como a fração máxima de matéria orgânica que será degradada por meio do processo anaeróbio em certo período de tempo, sob determinadas condições operacionais. Normalmente é utilizada para prever o comportamento de uma substância ou resíduo em um ambiente, seja ele natural, como um corpo hídrico, ou construído, como uma estação de tratamento.

Águas residuárias que apresentem baixa percentagem de DQO inerte ainda devem ser caracterizadas quanto à sua biodegradabilidade. Mesmo quando uma percentagem elevada da matéria orgânica de uma água residuária pode ser biodegradada, o processo biológico correspondente pode demorar muito para ocorrer. Portanto, o ensaio de biodegradabilidade permite conhecer a velocidade de um processo biológico e, conseqüentemente, avaliar sua aplicabilidade ao tratamento de águas residuárias (PAGGA, 1997).

Não há um procedimento padronizado para o ensaio de biodegradabilidade anaeróbia (PAGGA, 1997; ANGELIDAKI; SANDERS, 2004; MÜLLER; FROMMERT; JÖRG, 2004; KOWALCZYK et al., 2015). Além disso, os protocolos existentes são apontados como limitados, pois não reproduzem as condições ambientais em que a substância ou a água residuária seriam degradadas. Isso pode levar a falhas na predição do comportamento de um sistema biológico de tratamento quando submetido a condições ambientais reais (PAGGA, 1997; KOWALCZYK et al., 2015). Ademais, uma substância ou água residuária pode ser erroneamente caracterizada como pouco biodegradável, não porque de fato o seja, mas por falhas na concepção do método experimental (AMARAL et al., 2008; KOWALCZYK et al., 2015).

2.3.3.4 Relação DBO₅/DQO e sua aplicação particular ao lixiviado de aterro sanitário

Quando se deseja tratar uma água residuária por processos biológicos, é importante caracterizá-la quanto à sua composição e tratabilidade. Além da DQO, outro parâmetro que pode ser utilizado para estimar a concentração de matéria orgânica é a demanda bioquímica de oxigênio de cinco dias, a 20 °C (DBO₅). A relação DBO₅/DQO é, inclusive, utilizada para estimar a biodegradabilidade de uma água residuária e tem especial aplicação na caracterização de lixiviados de aterro sanitário (EHRIG, 1989; RENOU et al., 2008).

Segundo Ehrig (1989), as seguintes interpretações podem ser feitas a partir dos valores da relação DBO₅/DQO obtidos para lixiviados de aterros sanitários:

- **DBO₅/DQO igual ou superior a 0,4:** valores característicos para lixiviados de aterros considerados “jovens”. Valores de DBO₅ mais próximos daqueles da DQO indicam que uma boa fração da matéria orgânica é biodegradável;
- **DBO₅/DQO igual ou inferior a 0,1:** valores atribuídos a lixiviados de aterros “velhos”. O baixo valor de DBO₅ em relação à DQO sugere que a maior parte da matéria orgânica biodegradável já foi consumida, restando, no lixiviado, a matéria orgânica recalcitrante.

Renou e colaboradores (2008) propuseram utilizar o valor da relação DBO₅/DQO para avaliar a tratabilidade de lixiviados por sistemas biológicos. Os autores sugerem que para lixiviados “novos”, para os quais a relação DBO₅/DQO do lixiviado seja superior a 0,5, o tratamento biológico é uma alternativa eficaz e de baixo custo de manutenção. Porém, para lixiviados “intermediários” ou “velhos”, os autores afirmam que o tratamento biológico de lixiviado é, em geral, ineficiente. Entretanto, apesar de ainda ser amplamente utilizada na caracterização e na avaliação da tratabilidade do lixiviado (COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019), a relação DBO₅/DQO tem limitações e não deveria ser utilizada como único critério para a adoção ou rejeição de um sistema biológico de tratamento desta água residuária.

Por exemplo, a presença de constituintes inorgânicos no lixiviado, como os íons cloreto, pode interferir na determinação da DQO, levando à produção de valores maiores (RICE et al. – Ed., 2012, método 5220 D), o que, consequentemente, levaria a uma menor relação DBO₅/DQO. Por outro lado, dependendo das condições experimentais, a DBO₅ do lixiviado pode ser subestimada (quando há, por exemplo, a presença de substâncias tóxicas no

resíduo) ou superestimada (quando há a presença de formas nitrogenadas reduzidas no resíduo) (RICE et al. – Ed., 2012, método 5210 D).

O ensaio de DBO_5 , apesar de padronizado quanto a parâmetros como duração e temperatura de incubação, tem as mesmas fontes de variação que outros bioensaios. No QUADRO 2.4 é apresentada uma síntese dos bioensaios utilizados para a caracterização de sistemas anaeróbios. Também são apontadas as limitações comuns aos bioensaios apresentados.

QUADRO 2.4 – PRINCIPAIS BIOENSAIOS APLICADOS À AVALIAÇÃO DE SISTEMAS ANAERÓBIOS E SUAS LIMITAÇÕES

Bioensaio	O que mede	Limitações
Atividade metanogênica específica (AME)	A taxa máxima de produção de metano de um lodo anaeróbio	<ul style="list-style-type: none"> - Falta de métodos padronizados (com exceção do ensaio de DBO_5). - Influência da concentração da substância avaliada (concentrações elevadas podem ser tóxicas à microbiota; se muito baixas, podem não ser detectáveis analiticamente). - Reprodutibilidade dos resultados pode ser pequena devido às diferenças entre os lodos inoculados, volumes de lodo (se muito pequenos, podem não ser representativos das comunidades microbianas), relação A/M, entre outros. - Condições de realização dos métodos frequentemente não mimetizam as condições reais do ambiente a que a substância/resíduo será submetida (o).
Biodegradabilidade anaeróbia	A taxa de biodegradação de uma substância ou resíduo, avaliada por meio da formação de produtos ou degradação de um substrato	
DQO solúvel inerte	A fração recalcitrante da matéria orgânica de um substrato quando degradado por certo lodo	
Demanda Bioquímica de Oxigênio de cinco dias (DBO_5), parâmetro usado para cálculo da relação DBO_5/DQO	Quantidade de oxigênio dissolvido utilizado por micro-organismos durante a degradação aeróbia da matéria orgânica	

FONTE: adaptado de: DQO solúvel inerte - Germirli, Orhon e Artan (1991); Biodegradabilidade anaeróbia – Pagga (1997); Angelidaki e Sanders (2004); Müller, Frommert e Jörg (2004); Amaral et al. (2008); Kowalczyk et al. (2015); DBO_5 - Rice et al. – Editores (2012)

Embora apresentem limitações, associadas, sobretudo, às condições experimentais utilizadas, os bioensaios podem auxiliar na compreensão acerca do comportamento de um sistema anaeróbio aplicado ao tratamento de uma água residuária. Além deles, há uma série de parâmetros físicos, químicos e biológicos que podem ser utilizados para o monitoramento e controle do processo anaeróbio.

2.3.4 Parâmetros típicos de controle e monitoramento do processo anaeróbico

Os parâmetros normalmente utilizados para controle e monitoramento do processo anaeróbico podem ser agrupados conforme sua finalidade (CHERNICHARO, 2016), e são apresentados nos tópicos seguintes.

2.3.4.1 Parâmetros de monitoramento da eficiência do processo anaeróbico

A eficiência é a capacidade do sistema de tratamento para remover ou reduzir a concentração de componentes indesejáveis do resíduo, sobretudo matéria orgânica. Em termos gerais, a eficiência de um processo de tratamento biológico é determinada pela redução do valor da concentração afluente da DQO.

Além da degradação da matéria orgânica, para o processo anaeróbico, a eficiência pode ser avaliada em função da geração de produtos do metabolismo anaeróbico, especialmente os finais, como o biogás ou o metano. Quando a alimentação diária de um sistema anaeróbico é relativamente constante, a produção de biogás, e mais especificamente do metano, oferece um indicativo adequado do desempenho do processo (MCCARTY, 1964b). Quando o sistema de tratamento está em desequilíbrio, a taxa de produção de biogás e, conseqüentemente, a eficiência do processo anaeróbico diminuem. É neste princípio que se baseia, por exemplo, o método para a determinação da AME, bioensaio previamente descrito.

Os métodos para a quantificação da produção do biogás e/ou do metano em sistemas anaeróbios podem ser divididos em manométricos e volumétricos. Os primeiros baseiam-se na medição da pressão que um gás exerce sobre um sensor, enquanto os últimos são realizados a partir da determinação do volume de gás produzido em um frasco de reação em um intervalo de tempo (AQUINO et al., 2007).

Os métodos volumétricos, que apresentam menores custos em relação aos manométricos, podem ser classificados em indiretos, que medem o volume total de biogás produzido, e diretos, a partir dos quais apenas o volume de metano é determinado após o borbulhamento do biogás em uma solução de hidróxido de sódio, em que ocorre a absorção do dióxido de carbono. É possível, também, determinar a composição do biogás, especialmente quanto à percentagem de metano, parâmetro indicativo da estabilidade e eficiência do processo anaeróbico. Para esta finalidade, utiliza-se a cromatografia a gás (AQUINO et al., 2007).

2.3.4.2 Parâmetros de monitoramento da estabilidade do processo anaeróbio

No contexto do processo anaeróbio, a estabilidade do sistema refere-se à manutenção do equilíbrio da atividade metabólica das populações microbianas que o compõem. Um sistema anaeróbio instável pode ter a metanogênese inibida, o que leva, por vez, à perda da qualidade do efluente e a falhas operacionais. A concentração de ácidos orgânicos de cadeia curta, a acidez volátil total, a alcalinidade total e o pH são parâmetros utilizados para o monitoramento da estabilidade do processo anaeróbio.

A concentração de ácidos orgânicos de cadeia curta é um importante parâmetro de controle do sistema anaeróbio, pois reflete o estabelecimento e a manutenção do equilíbrio entre as populações microbianas envolvidas (MCCARTY, 1964a; ROCHA, 2011). Se houver desequilíbrio entre as populações acidogênica, sintrófica e metanogênica, a taxa de consumo dos ácidos orgânicos diminui, o que leva ao aumento da concentração desses produtos no sistema. A concentração aumentada de ácidos orgânicos de cadeia curta, especialmente os ácidos acético e propiônico, é inclusive considerada um dos primeiros indicadores do desequilíbrio do processo anaeróbio (MCCARTY; MCKINNEY, 1961b; MCCARTY; JERIS; MURDOCH, 1963; MCCARTY, 1964b). Além da determinação da concentração de ácidos orgânicos específicos, a avaliação conjunta dessas substâncias por meio da acidez volátil total permite também detectar a instabilidade de sistemas anaeróbios (DILLALO; ALBERTSON, 1961).

A alcalinidade, por outro lado, é um parâmetro que reflete a capacidade do sistema anaeróbio para neutralizar ácidos orgânicos e resistir a variações bruscas do pH. A operação bem sucedida de um sistema anaeróbio depende da manutenção da capacidade tamponante adequada, pois concentrações elevadas de ácidos orgânicos de cadeia curta podem exercer efeito inibitório. Assim, um parâmetro habitualmente utilizado para o monitoramento da estabilidade do processo anaeróbio é a relação entre a alcalinidade total e a acidez volátil total (DILALLO; ALBERTSON, 1961; RIPLEY; BOYLE; CONVERSE; ROCHA, 2011; MORAIS, 2016).

Em um sistema anaeróbio, a alcalinidade total (AT) corresponde à soma das alcalinidades devidas à presença de íons bicarbonato, denominada alcalinidade parcial, AP, e de ânions de ácidos orgânicos de cadeia curta, denominada alcalinidade intermediária, AI. Dessa forma, a relação entre a AT e as AP e AI, assim

como a relação AI/AP, são também parâmetros que podem ser utilizados na avaliação da estabilidade de um sistema anaeróbio (RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986; ROCHA, 2011; MORAIS, 2016).

Um dos primeiros efeitos do desequilíbrio do processo anaeróbio é o aumento da concentração dos ácidos orgânicos. Isso, por vez, pode levar à diminuição do pH do meio. Apesar de também ser um indicador utilizado para controle do processo anaeróbio, o pH apresenta resposta tardia, pois seu valor só se altera significativamente quando o sistema anaeróbio já está seriamente afetado (MCCARTY, 1964b; RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986).

2.3.4.3 Parâmetros de monitoramento da microbiota do processo anaeróbio

Os sistemas de tratamento biológico incluem, no seu dimensionamento, um ou mais parâmetros que refletem a concentração de micro-organismos inoculados no sistema. Tradicionalmente, o mais utilizado neste sentido é a concentração de sólidos voláteis, suspensos ou totais (CHERNICHARO, 2016). Para a quantificação dos sólidos voláteis, considera-se que a maioria dos compostos orgânicos, como as células microbianas, entra em combustão na temperatura do ensaio, geralmente 550 °C, e é perdida por volatilização, enquanto a matéria inorgânica permanece na amostra (RICE et al. – Ed., 2012, método 2540). Dessa forma, a concentração de sólidos voláteis, tanto suspensos como totais, pode representar indiretamente a concentração de micro-organismos em uma amostra.

Apesar da facilidade de se determinar experimentalmente a concentração de sólidos voláteis, ela pode ser considerada um indicador inespecífico da microbiota, pois não permite identificar os grupos microbianos particulares atuantes no sistema. Além disso, a concentração de sólidos voláteis pode não refletir a atividade microbiana de um lodo anaeróbio, conforme observado por Venkiteshwaran e colaboradores (2017), porque não permite diferenciar entre micro-organismos ativos ou inviáveis, ou mesmo entre células microbianas e matéria orgânica residual.

A partir da década de 1990, com o advento das técnicas moleculares, outros métodos passaram a ser utilizados para a avaliação da microbiota do processo anaeróbio. Essas técnicas permitem a obtenção de resultados específicos, pois visam à identificação e/ou quantificação de grupos microbianos importantes para o processo anaeróbio. Também possibilitam a quantificação mais exata de micro-

organismos presentes em lodos anaeróbios se comparadas, por exemplo, à determinação da concentração dos sólidos voláteis, e são mais sensíveis. No QUADRO 2.5, são apresentados exemplos de técnicas moleculares que podem ser aplicadas ao processo anaeróbio, seus objetivos e tipos de resultados obtidos.

QUADRO 2.5 – EXEMPLOS DE TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS PARA A AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA DO PROCESSO ANAERÓBIO

Objetivo	Exemplos de técnicas moleculares	Tipos de resultados obtidos
Obter informações sobre a diversidade e a identidade dos micro-organismos presentes em lodos anaeróbios	Clonagem e sequenciamento de Sanger Sequenciamento de Nova Geração (NGS)	Sequências do material genético dos micro-organismos presentes na amostra; taxonomia dos micro-organismos; árvores filogenéticas; matrizes de unidades taxonômicas operacionais
Avaliar como a dinâmica populacional microbiana do processo anaeróbio muda em função do tempo, de condições operacionais ou ambientais	Técnicas ditas de “ <i>fingerprinting</i> ”, ou de “impressão digital”: eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE) polimorfismo de comprimento de fragmentos terminais de restrição (T-RFLP)	DGGE: gel com bandas correspondentes às unidades taxonômicas operacionais da amostra T-RFLP: cromatograma com picos correspondentes às unidades taxonômicas operacionais da amostra
Determinar a quantidade de micro-organismos de diferentes grupos taxonômicos em amostras de lodo anaeróbio	Reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) Hibridização fluorescente <i>in situ</i> (FISH)	qPCR: número de cópias de sequências específicas de material genético microbiano FISH: volume ou concentração de micro-organismos de um grupo taxonômico específico. Normalmente, os resultados desta técnica permitem a análise semiquantitativa dos micro-organismos
Elucidar quais as funções metabólicas realizadas por diferentes grupos microbianos participantes do processo anaeróbio	Técnicas associadas às ciências “-ômicas”: metagenômica, transcriptômica, proteômica, metabolômica	Identificação de genes, transcritos, proteínas ou metabólitos e/ou moléculas produzidos pelos micro-organismos presentes em lodos anaeróbios

FONTE: adaptado de Cabezas et al. (2015)

2.3.4.4 Técnicas de microscopia aplicadas a lodos anaeróbios

Apesar de não permitirem a obtenção de resultados quantitativos acerca da concentração microbiana, como é possível a partir de algumas técnicas moleculares

e da determinação do teor de sólidos voláteis, as técnicas de microscopia podem auxiliar no monitoramento da microbiota associada a sistemas anaeróbios.

Os micro-organismos de sistemas biológicos produzem polímeros extracelulares, os quais possibilitam a adesão a superfícies e a agregação de células microbianas em biofilmes e/ou flocos biológicos. Os micro-organismos coexistem e interagem entre si por meio desses biofilmes e/ou flocos. Assim, a avaliação da evolução dos biofilmes e/ou dos flocos permite conhecer a diversidade microbiana de um sistema biológico de tratamento de águas residuárias, além de facilitar a compreensão sobre o relacionamento das populações microbianas entre si. Neste sentido, as técnicas de microscopia podem auxiliar o monitoramento do tratamento anaeróbio, pois permitem visualizar os arranjos populacionais microbianos em função de diferentes condições operacionais e ambientais.

Apesar de não permitir um resultado definitivo, a visualização da morfologia microbiana por meio de microscopia, em especial a eletrônica, pode contribuir com a identificação por associação a outras técnicas. Além disso, a microscopia eletrônica pode auxiliar no entendimento sobre a formação dos biofilmes. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) já permitiu, por exemplo, compreender a interação entre bactérias e arqueas e a estruturação de comunidades microbianas em camadas sobrepostas, formando grânulos em reatores UASB (MACLEOD; GUIOT; COSTERTON, 1990). Também foi utilizada para avaliar o bioaumento com micro-organismos metanogênicos em reatores de bancada e o seu efeito na formação dos biofilmes (ROCHA; BRAGA; BRAGA, 2017).

Outro tipo de microscopia que pode ser aplicada a lodos anaeróbios e em particular à detecção de arqueas metanogênicas é a óptica de fluorescência. Em 1972, ao observarem a fluorescência azulada de lisados celulares de uma cultura de *Methanobacterium bryantii*, uma arquea metanogênica, Cheeseman, Toms-Wood e Wolfe (1972) identificaram o cofator enzimático F_{420} . O cofator F_{420} foi assim denominado devido à absorbância característica da luz ultravioleta, com pico no comprimento de onda de 420 nm. O cofator F_{420} é taxonomicamente restrito, tendo sido identificado apenas em micro-organismos do domínio *Archaea* e em bactérias aeróbias do filo *Actinobacteria* (GREENING et al., 2016).

Em micro-organismos do domínio *Archaea*, o cofator F_{420} age como carreador de elétrons, sendo essencial em reações de oxirredução, como as de oxidação de substratos e de redução de cofatores enzimáticos. Pode ser encontrado

em arqueas metanogênicas, metanotróficas e redutoras de sulfato (GREENING et al., 2016). O cofator F_{420} é intrinsecamente fluorescente. Em seu estado oxidado, forma predominante em células metabolicamente ativas (EDWARDS; MCBRIDE, 1975), a molécula tem pico de absorbância no comprimento de onda de 420 nm e de emissão em 470 nm, apresentando fluorescência azulada.

O cofator F_{420} tem sido utilizado para a identificação de arqueas metanogênicas devido à fluorescência intrínseca e presença quase que exclusivamente restrita a estes micro-organismos. Neste sentido, a microscopia óptica de fluorescência em comprimentos de onda de excitação e de emissão similares aos do cofator F_{420} já foi utilizada, por exemplo, para o reconhecimento e triagem de micro-organismos metanogênicos em culturas mistas e para a confirmação da pureza de culturas metanogênicas (EDWARDS; MCBRIDE, 1975; DODDEMA; VOGELS, 1978; CONTRERA et al., 2018).

Doddema e Vogels (1978) observaram que culturas jovens de micro-organismos metanogênicos emitiam fluorescência mais intensa do que culturas estacionárias, ou seja, a autofluorescência característica do cofator F_{420} pode indicar, além da presença de arqueas metanogênicas em culturas mistas, a vitalidade destes micro-organismos em lodos anaeróbios. A microscopia de fluorescência, segundo sugerem os autores, é um método mais rápido de detecção de micro-organismos metanogênicos do que aqueles que envolvem cultivo ou análises metabólicas (DODDEMA; VOGELS, 1978). Dessa forma, a microscopia óptica de fluorescência pode ser uma ferramenta útil para a detecção e monitoramento de arqueas metanogênicas em lodos anaeróbios.

Em um sistema complexo, como aquele utilizado para o tratamento de águas residuárias, há variáveis físicas, químicas e biológicas interagindo entre si. Neste caso, a análise individual de uma ou de poucas variáveis raramente é capaz de descrever adequadamente o sistema ou de prever o seu comportamento. Entretanto, há ferramentas estatísticas, ainda pouco exploradas no Saneamento, que apresentam a vantagem de contemplar, simultaneamente, diversas variáveis e de determinar sua influência no comportamento dos sistemas como um todo. Uma destas ferramentas, o planejamento fatorial, é apresentada a seguir.

2.4 PLANEJAMENTOS FATORIAIS APLICADOS A SISTEMAS ANAERÓBIOS

Em sistemas biológicos e químicos ocorre, com frequência, a interação entre variáveis que exercem influência sobre o comportamento deles, muitas vezes com efeitos combinados. Por exemplo, as variáveis que exercem efeito inibitório sobre a microbiota de sistemas anaeróbios apresentam, recorrentemente, mecanismos de ação diferentes. Assim, quando estão simultaneamente presentes em um sistema biológico, podem potencializar o efeito umas das outras. Neste contexto, técnicas de otimização de experimentos, como os planejamentos fatoriais, podem contribuir para elucidar como e quanto diversas variáveis físicas, químicas e biológicas afetam, simultaneamente, o desempenho do processo anaeróbio.

O planejamento fatorial é uma técnica baseada em princípios estatísticos e que apresenta como vantagem a possibilidade de avaliar a interação entre fatores que podem influenciar a resposta de um sistema, com a realização de um número reduzido de experimentos. Os planejamentos fatoriais de dois níveis, por exemplo, podem ser utilizados para investigações preliminares acerca da influência de determinados fatores sobre a resposta de um sistema, demandando um número mínimo de ensaios experimentais (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Para realizar um planejamento fatorial completo, primeiramente são definidos os fatores cuja influência sobre a resposta de um sistema se deseja avaliar. Também são definidos os níveis em que cada fator deverá ser avaliado. Então, são realizados ensaios experimentais para todas as combinações possíveis de níveis desses fatores. Por fim, são calculados, por meio de análises estatísticas paramétricas, os efeitos principais de cada fator sobre a resposta do sistema, bem como os efeitos da combinação dos fatores.

Um exemplo de aplicação do planejamento fatorial completo é o realizado por Lee e Hwang (2019). Neste caso, o sistema estudado foi um reator anaeróbio inoculado com uma cultura pura de *Methanothrix concilli* (nome alternativo: *Methanosaeta concilli*), uma arquea metanogênica acetoclástica. Três fatores foram investigados: as concentrações de amônia livre (NH_3), de íons sódio (Na^+) e de sulfeto de hidrogênio (H_2S). Cada fator foi avaliado em três níveis, totalizando 27 experimentos, isto é, planejamento fatorial 3^3 . Foram analisadas duas respostas do sistema anaeróbio às substâncias citadas: a duração da fase de adaptação da microbiota (fase *lag*) e a atividade metanogênica específica. A partir dos resultados

para os efeitos principais e combinados dos fatores, os autores observaram que a influência sinérgica, ou seja, quando combinados, NH_3 e Na^+ levaram a maiores tempos de adaptação da microbiota e a menores taxas de produção de metano em relação ao efeito que exerciam quando presentes individualmente.

Os planejamentos fatoriais podem também ser utilizados para a otimização de sistemas, produtos e processos, pois permitem determinar como os fatores que exercem influência podem ser modificados de forma a obter melhor resposta (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010). Neste sentido, Souto e colaboradores (2010) realizaram uma série de planejamentos fatoriais para elucidar a influência de variáveis nos resultados da atividade metanogênica específica da microbiota de sistemas anaeróbios. Os autores observaram que, entre os fatores testados, os que levaram aos maiores valores de AME e aos maiores volumes de metano produzido pelos lodos anaeróbios foram a relação entre as quantidades de substrato e de lodo inoculado (A/M) e a utilização de solução de nutrientes.

Os resultados obtidos por Souto e colaboradores (2010), apresentados previamente, também indicam que, quando associados a bioensaios como aquele para a determinação da AME, os planejamentos fatoriais permitem estimar a influência de condições experimentais sobre as respostas dos sistemas sob avaliação. Portanto, os planejamentos fatoriais podem ser utilizados, como realizado nesta pesquisa, para avaliar a influência de fatores como as concentrações do inóculo e da matéria orgânica sobre a tratabilidade de águas residuárias por sistemas anaeróbios.

Além de condições experimentais, os sistemas anaeróbios estão sujeitos à influência de fatores operacionais e ambientais, que podem comprometer seu desempenho. Em síntese, neste sentido, o conhecimento em relação ao impacto de variáveis diversas sobre a adaptação da microbiota, objetivo principal desta pesquisa, pode permitir o melhor controle operacional dos sistemas anaeróbios. A aclimação adequada da microbiota também pode contribuir para a redução do tempo de partida e para o aumento da eficiência e da estabilidade dos sistemas associados, condições importantes para a aplicação de processos biológicos para o tratamento de águas residuárias.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo serão apresentados os métodos referentes à caracterização do lixiviado e dos lodos utilizados, aos bioensaios e à operação dos reatores anaeróbios em escala de bancada.

1. Coleta e caracterização do lixiviado e dos lodos: visando avaliar o impacto do armazenamento nas características físicas, químicas e biológicas do lixiviado e dos lodos, as análises de caracterização foram realizadas em duas ocasiões: i) imediatamente após as coletas e ii) decorridos seis meses das coletas.

2. Realização de bioensaios: com o objetivo de avaliar a tratabilidade do lixiviado de aterro sanitário pelos lodos anaeróbios selecionados para a aclimação, nesta fase foram realizados bioensaios para a determinação da DQO inerte e da biodegradabilidade anaeróbia do lixiviado.

3. Operação dos sistemas anaeróbios e monitoramento de variáveis físicas, químicas e biológicas: nesta etapa, os sistemas anaeróbios, compostos por lodos biologicamente ativos e substrato (lixiviado) foram operados e tiveram suas características monitoradas ao longo de 120 dias. Para isso, foram avaliadas diferentes condições operacionais e ambientais. Foram determinados parâmetros físicos e químicos cujas influências são apontadas como significativas ao processo anaeróbio. Também foram acompanhados parâmetros de eficiência e de estabilidade dos sistemas e de composição da microbiota durante a sua aclimação ao lixiviado de aterro sanitário.

Na FIGURA 3.1 são apresentadas as três principais etapas realizadas durante esta pesquisa, bem como suas relações com os objetivos específicos.

3.1 COLETA E CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO E DOS LODOS

3.1.1 Coleta do lixiviado de aterro sanitário

O lixiviado foi coletado em abril de 2019, do emissário do reservatório da estação de tratamento do aterro sanitário operado pela Estre Ambiental. O aterro sanitário está localizado no município de Fazenda Rio Grande, na Região Metropolitana de Curitiba, Paraná. Na FIGURA 3.2 é apresentada parte da área do aterro sanitário operado pela Estre Ambiental.

FIGURA 3.1 – ETAPAS EXPERIMENTAIS E RELAÇÃO COM OS OBJETIVOS ESPECÍFICOS

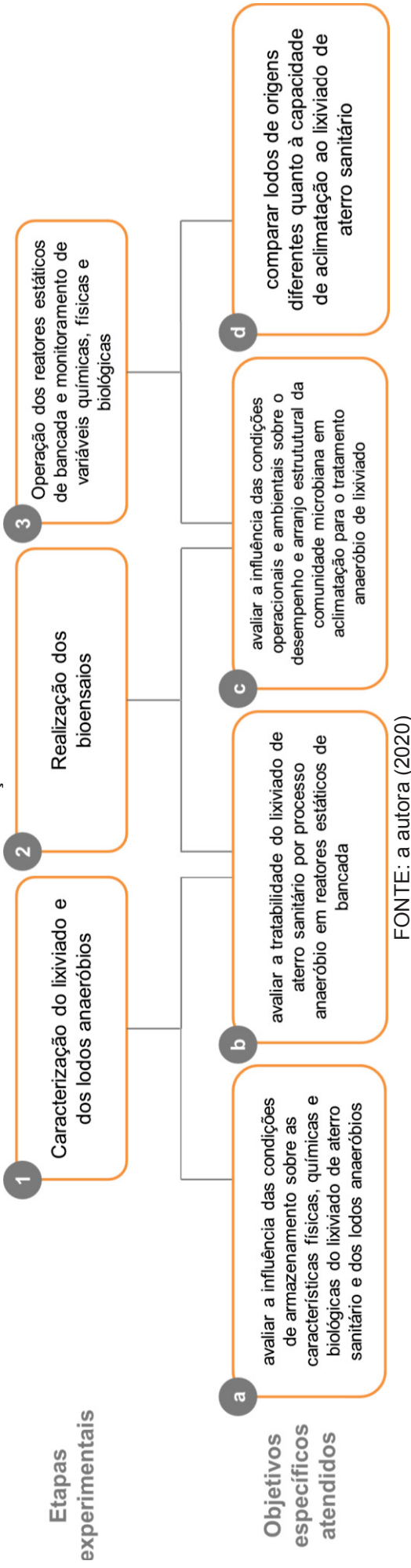


FIGURA 3.2 – ATERRO SANITÁRIO OPERADO PELA ESTRE AMBIENTAL



FONTE: adaptado de Google Maps; CNES; Airbus; Maxar Technologies (2019)

NOTA: coordenadas geográficas do ponto de coleta do lixiviado: 25°39'36.4"S 49°20'35.1"W

Foram coletados aproximadamente 80 L de lixiviado, distribuídos em recipientes plásticos de 30 L. Este volume coletado foi estimado a partir do plano de alimentação diária dos reatores anaeróbios de bancada e do período de operação destes sistemas, de aproximadamente 120 dias. Visando reduzir possíveis variações na composição química e biológica do lixiviado que poderiam interferir nos resultados para a operação dos sistemas anaeróbios, decorrentes de coletas distintas, foi realizada apenas uma campanha para o recolhimento desta água residuária. Os recipientes foram armazenados nas dependências do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Universidade Federal do Paraná, e o lixiviado foi conservado à temperatura ambiente até o momento da utilização.

3.1.2 Caracterização do lixiviado de aterro sanitário

Os parâmetros utilizados para a caracterização do lixiviado de aterro sanitário, realizada logo após a coleta, são apresentados no QUADRO 3.1. Exceto para a determinação da alcalinidade total e da acidez volátil total, os ensaios seguiram os protocolos do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (RICE et al. – Ed., 2012).

O lixiviado foi caracterizado novamente após seis meses da coleta, mediante análise dos parâmetros apresentados no QUADRO 3.1. Esta etapa teve como objetivo avaliar a influência das condições de armazenamento na manutenção das características químicas do lixiviado.

QUADRO 3.1 – PARÂMETROS QUÍMICOS PARA A CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO

Parâmetro	Método	Referência	Código do método
Alcalinidade (total/parcial/intermediária); acidez volátil total	Potenciométrico	DiLallo e Albertson (1961); Ripley, Boyle e Converse (1986)	-
Cloreto	Argentométrico	Rice et al. - Editores (2012)	4500-Cl- B
Condutividade	Condutimétrico		2510
DBO ₅	Respirométrico		5210 D
DQO de amostra filtrada ⁽¹⁾	Refluxo fechado – colorimétrico		5220 D
DQO de amostra não filtrada (DQO total)			
Nitrogênio amoniacal total	Titulométrico		4500-NH3 F
Ortofosfato	Ácido ascórbico		4500-P E
pH	Eletrométrico (pHmetro)		4500 H+

FONTE: a autora (2020)

NOTA: (1) as amostras de lixiviado foram filtradas em membrana de fibra de vidro com diâmetro de poro de 0,6 µm

Em função dos resultados obtidos para a caracterização do lixiviado após seis meses da coleta, que indicaram a sua recalcitrância, optou-se pela não realização de nova coleta e pela utilização deste lixiviado refratário para a realização dos bioensaios e para a operação dos reatores anaeróbios de bancada. Esta decisão teve como objetivo avaliar a recalcitrância do substrato, neste caso, o lixiviado armazenado durante seis meses, condição frequentemente encontrada em estações de tratamento desta água residuária, como um fator de influência sobre o desempenho e aclimação da microbiota dos lodos anaeróbios.

3.1.3 Coleta dos lodos

Foram coletados, em abril de 2019, lodos de duas origens distintas:

- **Lodo 1:** proveniente do Aterro Municipal de Curitiba, ou Aterro da Caximba, coletado da lagoa facultativa, em um ponto próximo à entrada do lixiviado na lagoa (coordenadas: 25°37'21.6"S e 49°20'12.1"W). A lagoa facultativa é de escala plena e se destina ao tratamento de lixiviado de aterro sanitário. O Lodo 1 foi selecionado

para que se pudesse avaliar o efeito da exposição e adaptação prévia dos micro-organismos ao lixiviado de aterro sanitário.

- **Lodo 2:** coletado da Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) Padilha Sul (coordenadas do ponto de coleta: 25°33'39.9"S e 49°14'42.7"W). A ETE é operada pela Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR). O Lodo 2 é proveniente de um reator UASB, operado em escala plena e utilizado para tratamento de esgoto sanitário. O Lodo 2 foi utilizado para que se pudesse realizar a comparação entre o desempenho de um lodo previamente exposto ao lixiviado, Lodo 1, e um lodo não adaptado a esta água residuária, Lodo 2.

Subsequentemente à coleta, os lodos foram acondicionados em frascos plásticos e mantidos sob refrigeração (4 °C) até a sua utilização.

Nas FIGURAS 3.3 e 3.4 são apresentadas, respectivamente, imagens de satélite do Aterro da Caximba e da ETE Padilha Sul, bem como os pontos de coleta dos dois lodos avaliados nesta pesquisa.

FIGURA 3.3 – PONTO DE COLETA DO LODO 1 – ATERRO DA CAXIMBA



FONTE: adaptado de Google Maps; CNES; Airbus; DigitalGlobe (2019)

FIGURA 3.4 – PONTO DE COLETA DO LODO 2 – ETE PADILHA SUL



FONTE: adaptado de Google Maps; CNES; Airbus; DigitalGlobe (2019)

3.1.4 Caracterização dos lodos

Os parâmetros e os métodos utilizados para a caracterização dos lodos são apresentados no QUADRO 3.2. Com a finalidade de diminuir o tamanho dos grânulos e de tornar as amostras mais homogêneas, anteriormente aos ensaios de caracterização, ambos os lodos foram passados por peneira comum.

Assim como o lixiviado, os lodos foram reavaliados após seis meses da coleta, por meio dos parâmetros apresentados no QUADRO 3.2. Esta etapa teve como objetivo analisar a sua viabilidade e a manutenção da sua atividade metabólica em função do período e das condições de armazenamento.

QUADRO 3.2 – PARÂMETROS PARA CARACTERIZAÇÃO DOS LODOS

Parâmetro	Método	Referência
Atividade metanogênica específica (AME)	Volumétrico com lavagem alcalina do biogás	Aquino et al. (2007); Rocha (2011); Morais (2016); Rietow (2018); Baettker (2019)
Série de sólidos	Gravimétrico	Rice et al. - Editores (2012)

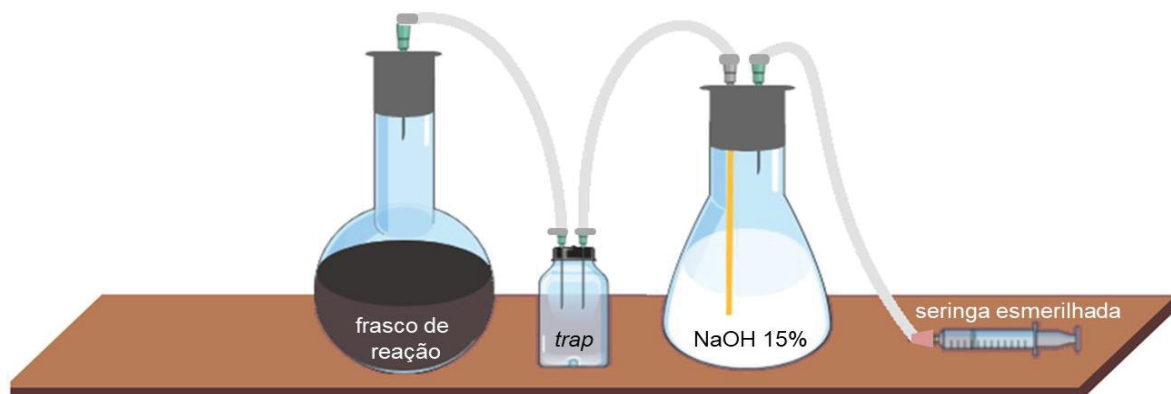
FONTE: a autora (2020)

3.1.4.1 Atividade metanogênica específica (AME)

O ensaio para a determinação da atividade metanogênica específica (AME) foi realizado de acordo com as recomendações propostas por Aquino et al. (2007), e

se baseou na medição volumétrica direta do metano produzido. O aparato experimental utilizado para a determinação da AME é apresentado na FIGURA 3.5.

FIGURA 3.5 – APARATO EXPERIMENTAL PARA A REALIZAÇÃO DO ENSAIO DA AME



FONTE: a autora (2020)

A seguir, são apresentadas a descrição do método e a composição do aparato experimental utilizados para a realização do ensaio da AME:

- **frasco de reação:** neste frasco, foram recebidas alíquotas dos lodos avaliados, de forma que sua concentração fosse de $2 \text{ g}_{\text{SVT}}/\text{L}_{\text{reação}}$, solução de micro e de macronutrientes, conforme TABELAS 3.1 e 3.2, respectivamente, e substrato;
- **frasco de segurança (trap):** a função deste componente foi evitar o refluxo da solução de hidróxido de sódio (NaOH) 15%, que poderia vir a passar para o frasco de reação e inibir a microbiota nele contida;
- **frasco com solução de NaOH 15%:** após passar pelo frasco de segurança, o biogás produzido no frasco de reação foi borbulhado em solução de NaOH 15%, para reter o dióxido de carbono (CO_2). A maior fração do metano (CH_4) produzido era liberada da solução de NaOH 15% e seguia para a etapa de medição;
- **seringa esmerilhada:** após a liberação do frasco contendo a solução de NaOH 15%, o volume de metano produzido em intervalos determinados de tempo foi medido em seringa esmerilhada por meio do deslocamento do seu êmbolo.

Para avaliar a atividade de todo o consórcio microbiano dos lodos anaeróbios e sustentar a atividade metabólica dos micro-organismos fermentativos, sintróficos e metanogênicos, a glicose foi utilizada como substrato para a realização do ensaio visando à determinação da AME.

TABELA 3.1 – SOLUÇÃO DE MICRONUTRIENTES UTILIZADA NO ENSAIO DA AME

Componente	Concentração na solução-mãe de micronutrientes (mg/L)
FeCl ₃ .6H ₂ O	2
ZnCl ₂	0,05
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,03
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,5
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,05
CoCl ₂ .6H ₂ O	2
NiCl ₂ .6H ₂ O	0,05
H ₃ BO ₃	0,01
HCl 37%	1 mL/L

FONTE: Aquino et al. (2007)

NOTA: a solução-mãe de micronutrientes foi adicionada à solução de macronutrientes, na proporção de 1 mL de solução-mãe de micronutrientes por litro de solução de macronutrientes

TABELA 3.2 – SOLUÇÃO DE MACRONUTRIENTES UTILIZADA NO ENSAIO DA AME

Componente	Concentração no frasco de reação (mg/L)
NaHCO ₃	1.000
KH ₂ PO ₄	650
K ₂ HPO ₄	150
NH ₄ Cl	500
MgCl ₂	100
CaCl ₂ .2H ₂ O	100
Extrato de levedura	50

FONTE: Aquino et al. (2007)

Outras condições experimentais utilizadas no ensaio para a determinação da AME são apresentadas no QUADRO 3.3.

QUADRO 3.3 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS PARA A REALIZAÇÃO DO ENSAIO DA AME

Substrato	Solução de glicose (10 g/L)
Volume reacional	0,2 L
Concentração de sólidos voláteis totais dos lodos (SVT) no frasco reacional	2 g _{SVT} /L
Concentração de DQO do substrato	2 g _{DQO} /L
Relação A/M	1,0 g _{DQO} /g _{SVT}
Temperatura de realização do ensaio	35 ± 2 °C

FONTE: a autora (2020)

Para a realização dos ensaios, os lodos foram colocados nos frascos de reação e foram adicionadas as soluções de micro e de macronutrientes. Para completar o volume de reação, 0,2 L, e introduzir micronutrientes adicionais, como

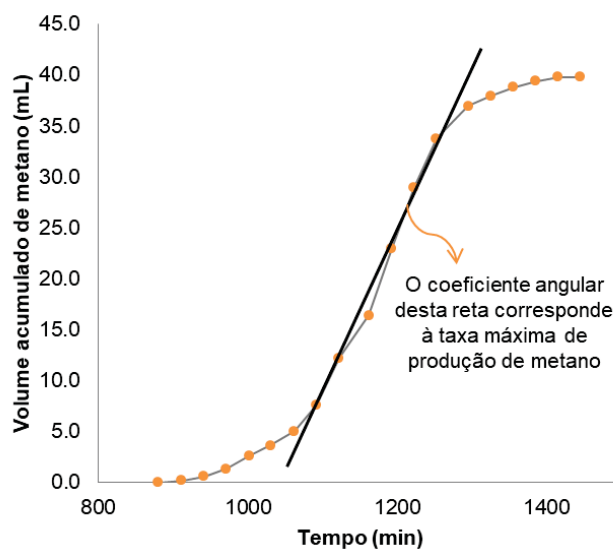
íons cálcio e magnésio, também foi utilizada água de torneira, mantida em repouso durante 1 hora previamente à utilização para remoção do cloro residual. Visando eliminar o metano de origem endógena dos frascos, estes foram deixados em repouso por três dias em câmara térmica, com temperatura controlada em 35 °C, previamente ao início do ensaio.

Após a montagem do aparato experimental e a adição do substrato (solução de glicose, 10 g/L), o oxigênio foi purgado do sistema por meio do uso de nitrogênio gasoso (N₂), utilizado durante 30 segundos em cada frasco de reação. Na sequência, os frascos de reação foram fechados e conectados ao restante do sistema, e o ensaio da AME foi iniciado.

O volume de metano produzido correspondeu ao volume deslocado na seringa, tendo sido monitorado ao longo do tempo até a estabilização da produção, quando o ensaio foi encerrado (aproximadamente três dias). O volume de metano acumulado foi plotado contra o tempo decorrido do início do ensaio. A partir do gráfico gerado, uma reta foi ajustada à porção linear da curva. O coeficiente angular dessa reta, que correspondeu à máxima produção de metano em certo período de tempo (em mL de metano/hora), foi utilizado para a determinação da AME.

O gráfico apresentado na FIGURA 3.6 ilustra a obtenção da curva que relaciona o volume acumulado de metano ao tempo de ensaio, assim como a reta ajustada à porção aproximadamente linear da curva, que permite determinar a taxa máxima de produção de metano.

FIGURA 3.6 – EXEMPLO DE REPRESENTAÇÃO GRÁFICA TEMPO *VERSUS* PRODUÇÃO ACUMULADA DE METANO



FONTE: a autora (2020)

Para obter o resultado da AME, o coeficiente linear da reta foi dividido pela quantidade (em gramas) de sólidos voláteis totais (SVT) dos lodos presentes em cada frasco de reação no início do ensaio. Finalmente, o resultado, em $\text{mL}_{\text{CH}_4}/\text{h} \cdot \text{g}_{\text{SVT lodo}}$, foi transformado para a unidade habitual da AME, g DQO convertida a metano/ $\text{d} \cdot \text{g}_{\text{SVT lodo}}$, por meio da Equação 3.1.

$$\text{AME} = \frac{\text{mL CH}_4}{\text{h} \times \text{SVT}} \times \frac{24 \text{ h}}{\text{d}} \times \frac{64 \text{ g DQO}}{\text{mol CH}_4} \times f \left(\frac{\text{moles CH}_4}{\text{mL CH}_4} \right) \quad (3.1)$$

O fator f apresentado na Equação 3.1 correspondeu à conversão do volume de metano produzido à quantidade de moles de metano, nas condições do ensaio (1 atmosfera e 36 °C). Esse fator foi encontrado pela aplicação da Equação de Clapeyron rearranjada (3.2):

$$f = \frac{n}{V} = \frac{p}{R \times T} \quad (3.2)$$

em que:

n : quantidade de moles de metano (moles CH_4)

V : volume de metano (L CH_4)

p : pressão à qual o sistema estava submetido (aproximadamente 1 atm)

R : constante universal dos gases ($0,08206 \frac{\text{atm} \times \text{L}}{\text{mol} \times \text{K}}$)

T : temperatura de realização do ensaio (K)

Para avaliar a degradação do substrato ao longo do ensaio e a susceptibilidade dos lodos anaeróbios ao acúmulo de ácidos orgânicos de cadeia curta, após o encerramento do ensaio da AME, realizado durante a segunda caracterização dos lodos, foram retiradas amostras de sobrenadante dos frascos de reação para a determinação das concentrações da DQO, das alcalinidades total, intermediária e parcial e da acidez volátil total.

O método utilizado para a determinação da DQO seguiu o protocolo do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (RICE et al. – Editores, 2012, método 5220 D). As amostras foram filtradas previamente em membrana de fibra de vidro com diâmetro de poro 0,6 μm . As análises para a

determinação das alcalinidades total, intermediária e parcial foram realizadas de acordo com Ripley, Boyle e Converse (1986) e, para a determinação da acidez volátil total, segundo DiLallo e Albertson (1961).

3.2 BIOENSAIOS

Visando avaliar a tratabilidade do lixiviado de aterro sanitário pelos lodos anaeróbios selecionados para esta pesquisa, nesta etapa foram realizados bioensaios para a determinação da concentração da DQO solúvel inerte e da biodegradabilidade anaeróbia desta água residuária. O lixiviado utilizado foi aquele armazenado durante seis meses à temperatura ambiente.

3.2.1 DQO solúvel inerte

O método utilizado para a determinação da DQO solúvel inerte do lixiviado de aterro sanitário foi adaptado de Germirli, Orhon e Artan (1991). Foram utilizados frascos com volume de reação de 0,2 L, aos quais foram adicionados, em condições anaeróbias, lodo, lixiviado de aterro sanitário e água de torneira em quantidade suficiente para completar o volume reacional de 0,2 L. Esta última foi utilizada para adicionar micronutrientes ao meio reacional, como íons cálcio e magnésio, e foi mantida em repouso por 1 hora previamente à utilização, para remoção do cloro residual. Para cada experimento, foi também preparado um frasco contendo o mesmo volume de lodo, água de torneira e solução de glicose (6 g/L), isso para que a concentração da DQO afluyente ao sistema fosse semelhante à do frasco contendo a diluição correspondente de lixiviado.

Na FIGURA 3.7 é apresentado o aparato experimental utilizado para a determinação da DQO inerte solúvel do lixiviado.

FIGURA 3.7 – APARATO EXPERIMENTAL UTILIZADO PARA O ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DA DQO INERTE SOLÚVEL DO LIXIVIADO



FONTE: a autora (2020)

Para avaliar simultaneamente a influência da concentração de lodo e da DQO afluyente ao sistema reacional na determinação da DQO solúvel inerte, foi realizado, para cada um dos lodos utilizados, um planejamento fatorial com dois níveis e duas variáveis (2^2), com triplicata do ponto central, totalizando sete frascos de reação contendo lixiviado diluído e sete contendo solução de glicose. Portanto, foram utilizados 14 frascos de reação para cada lodo. A média dos valores das variáveis dos níveis inferior e superior foi utilizada para a definição das condições experimentais para a triplicata correspondente ao ponto central do planejamento.

Diferentes concentrações de lodo foram obtidas a partir da adição de distintas concentrações de SVT aos frascos, enquanto diferentes concentrações da DQO afluyente foram produzidas por meio da diluição do lixiviado puro ou da solução de glicose (6 g/L). A matriz de planejamento fatorial é apresentada no QUADRO 3.4.

QUADRO 3.4 - VARIÁVEIS E NÍVEIS DO PLANEJAMENTO FATORIAL PARA A REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS PARA A DETERMINAÇÃO DA DQO SOLÚVEL INERTE E DA BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA

Variável	Lodo 1: lagoa facultativa		Lodo 2: reator UASB	
	Nível inferior	Nível superior	Nível inferior	Nível superior
Concentração do lodo inoculado (g SVT/L)	1,0	3,0	1,0	3,0
DQO afluyente (g DQO/L _{reação})	0,757	1,514	0,757	1,514

FONTE: a autora (2020)

Nos QUADROS 3.5 e 3.6 são apresentadas as condições utilizadas durante a realização dos planejamentos fatoriais para os Lodos 1 e 2, respectivamente.

QUADRO 3.5 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS PARA A REALIZAÇÃO DO BIOENSAIO DE DQO SOLÚVEL INERTE E DE BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA – LODO 1

Lodo 1 – frascos alimentados com lixiviado diluído de aterro sanitário					
Concentração de SVT do lodo: 8,72 g/L					
Concentração de DQO do lixiviado puro: 4,458 g O ₂ /L					
Experimento	Concentração do lodo (g SVT _{lodo} /L _{reação})	Volume de lodo inoculado (mL)	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Volume de lixiviado (mL)	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})
L1	1,0	22,9	1,514	67,9	1,51
L2	3,0	68,8	1,514	67,9	0,50
L3	1,0	22,9	0,757	34,0	0,76
L4	3,0	68,8	0,757	34,0	0,25
L5 - Ponto central	2,0	46,0	1,135	50,9	0,57
L6 - Ponto central					
L7 - Ponto central					
Lodo 1 – frascos alimentados com solução de glicose 6 g/L diluída					
Concentração de SVT do lodo: 8,72 g/L					
Concentração de DQO da solução de glicose: 6,891 g O ₂ /L					
Experimento	Concentração do lodo (g SVT _{lodo} /L _{reação})	Volume de lodo inoculado (mL)	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Volume de solução de glicose (mL)	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})
G1	1,0	22,9	1,514	43,9	1,51
G2	3,0	68,8	1,514	43,9	0,50
G3	1,0	22,9	0,757	22,0	0,76
G4	3,0	68,8	0,757	22,0	0,25
G5 - Ponto central	2,0	46,0	1,135	32,9	0,57
G6 - Ponto central					
G7 - Ponto central					

FONTE: a autora (2020)

QUADRO 3.6 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS PARA A REALIZAÇÃO DO BIOENSAIO DE DQO SOLÚVEL INERTE E DE BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA – LODO 2

(continua)

Lodo 2 – frascos alimentados com lixiviado diluído de aterro sanitário					
Concentração de SVT do lodo: 21,59 g/L					
Concentração de DQO do lixiviado puro: 4,542 g O ₂ /L					
Experimento	Concentração do lodo (g SVT _{lodo} /L _{reação})	Volume de lodo inoculado (mL)	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Volume de lixiviado (mL)	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})
L1	1,0	9,3	1,514	66,7	1,51
L2	3,0	27,8	1,514	66,7	0,50
L3	1,0	9,3	0,757	33,3	0,76
L4	3,0	27,8	0,757	33,3	0,25
L5 - Ponto central	2,0	18,5	1,135	50,0	0,57
L6 - Ponto central					
L7 - Ponto central					

QUADRO 3.6 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS PARA A REALIZAÇÃO DO ENSAIO DE DQO SOLÚVEL INERTE E DE BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA – LODO 2

(conclusão)

Lodo 2 – frascos alimentados com solução de glicose 6 g/L diluída					
Concentração de SVT do lodo: 21,59 g/L					
Concentração de DQO da solução de glicose: 6,211 g O ₂ /L					
Experimento	Concentração do lodo (g SVT _{lodo} /L _{reação})	Volume de lodo inoculado (mL)	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Volume de solução de glicose (mL)	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})
G1	1,0	9,3	1,528	49,2	1,53
G2	3,0	27,8	1,528	49,2	0,51
G3	1,0	9,3	0,764	24,6	0,76
G4	3,0	27,8	0,764	24,6	0,25
G5 - Ponto central	2,0	18,5	1,146	36,9	0,57
G6 - Ponto central					
G7 - Ponto central					

FONTE: a autora (2020)

Os níveis das variáveis foram estabelecidos conforme as condições utilizadas por Germirli, Orhon e Artan (1991) para o bioensaio da DQO solúvel inerte. Também foram definidos segundo recomendações para o ensaio da AME sem agitação, segundo Aquino e colaboradores (2007) e Souto e colaboradores (2010).

Após a adição dos lodos, da água de torneira e do lixiviado ou da solução de glicose, conforme o caso, o oxigênio foi removido de cada frasco mediante injeção de N₂ por 30 segundos. Os frascos contendo os lodos e o lixiviado diluído ou a solução de glicose foram incubados à temperatura de 35 ± 2 °C, em estufa bacteriológica. Uma vez ao dia, foram agitados manualmente.

Periodicamente, foram retiradas alíquotas de, aproximadamente, 2,5 mL do sobrenadante de cada frasco. As alíquotas foram filtradas utilizando membrana de fibra de vidro, com diâmetro de poro de 0,6 µm. Com os filtrados, foram determinadas as concentrações da DQO efluente de cada frasco reação em função do tempo de ensaio. O método utilizado para a determinação da concentração da DQO de cada alíquota foi o colorimétrico em refluxo fechado, conforme o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (RICE et al. – Ed., 2012, método 5220 D). Cada análise visando à determinação da concentração da DQO efluente foi realizada a partir de uma única replicata da alíquota correspondente.

O ensaio foi encerrado após 28 dias de incubação dos frascos reacionais. Este período foi definido de acordo com recomendações apresentadas por Pagga (1997) e Kowalczyk e colaboradores (2015), sendo considerado o intervalo

necessário para assegurar a degradação virtualmente completa das substâncias orgânicas biodegradáveis presentes em uma amostra.

Para cada frasco de reação, ou experimento, foi calculada a concentração média da DQO residual e o desvio-padrão associado. Para isso, foram selecionadas no mínimo duas alíquotas para cada frasco de reação, coletadas em dias consecutivos, que apresentavam valores aproximadamente constantes da concentração da DQO efluente, indicando a estabilização do processo biológico. O seguinte critério foi adotado para a escolha dessas alíquotas: o coeficiente de variação, isto é, o quociente entre o desvio-padrão e a média para a DQO efluente de cada experimento, calculados a partir das alíquotas, não deveria exceder 20%.

Conforme Germirli, Orhon e Artan (1991), a concentração da DQO inerte solúvel do lixiviado foi, então, calculada pela Equação 3.3.

$$\text{DQO}_{\text{solúvel inerte do lixiviado}} = \text{DQO}_{\text{residual média do frasco que contém o lixiviado}} - \frac{\text{DQO}_{\text{residual média do frasco que contém a solução de glicose}}}{\text{DQO}_{\text{residual média do frasco que contém a solução de glicose}}} \quad (3.3)$$

Para avaliar a influência das variáveis testadas durante o planejamento fatorial, os resultados para os diferentes experimentos foram utilizados para o cálculo dos efeitos dessas variáveis. Também foi calculada a estimativa do desvio-padrão de um efeito, a partir dos resultados para o ponto central, e foi estabelecido um valor limite a partir do qual os efeitos pudessem ser considerados estatisticamente significativos. As equações utilizadas para o cálculo e interpretação dos resultados dos planejamentos fatoriais são apresentadas no Apêndice 1.

3.2.2 Biodegradabilidade anaeróbia

O mesmo aparato experimental e os mesmos planejamentos fatoriais apresentados para o cálculo da concentração da DQO solúvel inerte (QUADROS 3.5 e 3.6) foram utilizados para a determinação da biodegradabilidade anaeróbia do lixiviado de aterro sanitário. Este ensaio foi utilizado para monitorar a degradação do lixiviado de aterro sanitário ao longo do tempo de tratamento, por meio do perfil de diminuição ou aumento da concentração da DQO dos sistemas associados. Para esta finalidade, as concentrações da DQO efluente, determinadas a partir das

alíquotas retiradas periodicamente dos frascos de reação, foram expressas graficamente em função do tempo de ensaio.

Os resultados para a DQO efluente média das amostras filtradas, produzidos para a determinação da DQO inerte do lixiviado, foram utilizados também nesta etapa. A percentagem de remoção ou de acúmulo da DQO foi, então, calculada por meio da Equação 3.4.

$$\text{Percentagem de remoção da DQO (\%)} = \frac{DQO_{\text{afluente}} - DQO_{\text{efluente média}}}{DQO_{\text{afluente}}} \times 100 \quad (3.4)$$

Em função de alguns resultados negativos para a percentagem de remoção da DQO, obtidos a partir da aplicação da Equação 3.4 e que poderiam comprometer a utilização dos planejamentos fatoriais, foram também calculadas as percentagens da concentração da DQO residual, ou DQO efluente, em relação à da DQO afluente, conforme Equação 3.5.

$$\text{Percentagem DQO efluente em relação à afluente (\%)} = \frac{DQO_{\text{efluente média}}}{DQO_{\text{afluente}}} \times 100 \quad (3.5)$$

Para avaliar a influência das variáveis testadas durante o planejamento fatorial, os resultados para os diferentes experimentos foram utilizados para o cálculo dos efeitos dessas variáveis. Também foi calculada a estimativa do desvio-padrão de um efeito, a partir dos resultados para a triplicata correspondente ao ponto central, e foi estabelecido um valor limite a partir do qual os efeitos pudessem ser considerados estatisticamente significativos. As equações utilizadas para o cálculo e interpretação dos resultados dos planejamentos fatoriais são apresentadas no Apêndice 1.

3.3 OPERAÇÃO DOS SISTEMAS ANAERÓBIOS E MONITORAMENTO DE VARIÁVEIS QUÍMICAS, FÍSICAS E BIOLÓGICAS

3.3.1 Montagem e operação dos sistemas anaeróbios visando à aclimação ao lixiviado de aterro sanitário

Nesta etapa, dois sistemas anaeróbios de reatores de bancada foram montados e operados. O volume total de cada reator era de 4 litros, com volume útil de 3 litros, sendo este último composto por lodo anaeróbio e substrato, conforme representação esquemática apresentada na FIGURA 3.8.

FIGURA 3.8 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS REATORES UTILIZADOS DURANTE A ACLIMATAÇÃO DA MICROBIOTA AO LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO



FONTE: a autora (2020)

Na FIGURA 3.9 são apresentados os dois reatores em operação.

FIGURA 3.9 – REATORES UTILIZADOS DURANTE A ACLIMATAÇÃO DA MICROBIOTA AO LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO



FONTE: a autora (2020)

O volume de lodo inoculado a cada um dos reatores foi calculado a partir das respectivas concentrações médias de sólidos voláteis totais, de forma que a concentração inicial de lodo em cada reator fosse de $2 \text{ g}_{\text{SVT}}/\text{L}_{\text{volume útil}}$. No QUADRO 3.7 são apresentadas as informações detalhadas sobre a inoculação dos reatores. Ambos os lodos foram peneirados antes de serem adicionados aos reatores. Após a inoculação, o oxigênio potencialmente presente nos reatores foi removido por meio da injeção de gás nitrogênio (N_2) durante 1 minuto.

QUADRO 3.7 – CONDIÇÕES DE INOCULAÇÃO DOS REATORES

Reator	Lodo inoculado	Concentração média de SVT do lodo no momento da inoculação (g/L)	Volume de lodo adicionado ao reator (L)
R1	Lodo 1 – coletado de lagoa facultativa aplicada ao tratamento de lixiviado de aterro sanitário	8,72	0,688
R2	Lodo 2 – coletado de reator UASB aplicado ao tratamento de esgoto sanitário	21,59	0,278

FONTE: a autora (2020)

Inicialmente, o volume de substrato adicionado diariamente a cada reator foi calculado de acordo com a carga orgânica volumétrica inicial ($0,05 \text{ g}_{\text{DQO}}/\text{L.d}$), relacionada ao volume útil do reator naquele determinado momento, até que o volume útil final de 3 litros fosse completado.

Após o preenchimento do volume útil, a operação dos sistemas anaeróbios teve início, em regime semicontínuo, em bateladas sequenciais. Cada ciclo de batelada teve duração de 24 horas, sendo subdivido nas etapas de retirada do sobrenadante efluente (10 minutos); alimentação do substrato afluente (10 minutos), sedimentação do lodo e reação (restante do ciclo). Após a alimentação diária com o substrato, os reatores eram agitados manualmente por 30 segundos.

Durante a operação, a vazão afluente de substrato passou a ser função do volume útil do reator, mantido em 3 L, e da carga orgânica volumétrica (COV) desejada. A vazão afluente de substrato alimentado diariamente a cada reator, que foi igual à vazão do sobrenadante efluente, foi calculada por meio da Equação 3.6.

$$Q = \frac{COV.V}{DQO} \quad (3.6)$$

em que:

Q: vazão afluente de substrato a ser alimentado ao reator = vazão efluente de sobrenadante a ser retirado do reator (L/d)

COV: carga orgânica volumétrica ($g_{DQO}/L.d$)

V: volume útil do reator (L)

DQO: demanda química de oxigênio do substrato alimentado (g_{DQO}/L)

Para o início da aclimação dos lodos, foi adotada a COV de 0,05 $g_{DQO}/L.d$, e o substrato utilizado foi lixiviado diluído de aterro sanitário, mantido à temperatura ambiente durante seis meses após a coleta. Este valor de COV foi progressivamente aumentado até que se atingisse 1,0 $g_{DQO}/L.d$. O tempo de detenção hidráulica (TDH), calculado por meio da Equação 3.7, foi inicialmente adotado como 10 dias. A partir da COV de 0,6 $g_{DQO}/L.d$, o TDH foi reduzido para 5 dias (fases 7 e 8) e, finalmente, para 4 dias, para a COV de 1,0 $g_{DQO}/L.d$ (fases 9 e 10).

$$TDH = \frac{V}{Q} \quad (3.7)$$

em que:

TDH: tempo de detenção hidráulica (d)

V: volume útil do reator (L)

Q: vazão efluente de sobrenadante a ser retirado do reator (L/d)

Em função dos primeiros resultados de monitoramento da eficiência do processo anaeróbio, que indicaram a baixa biodegradabilidade do lixiviado armazenado durante seis meses após a coleta (tópico 4.4), o substrato alimentado aos reatores a partir da COV de 0,1 g_{DQO}/L.d (fases 3 a 9) passou a ser composto de lixiviado diluído de aterro sanitário e de uma solução de glicose (10 g/L). O substrato afluente foi preparado de forma que 50% da concentração da DQO total fosse oriunda do lixiviado diluído e 50% da solução de glicose. Durante as fases 8 e 9, foi também adicionada ao substrato uma solução de KH₂PO₄ (500 mg P/L), de modo que a relação entre as concentrações DQO/P do afluente fosse de igual a 200/1.

Os sistemas anaeróbios referentes aos reatores R1 e R2 foram mantidos em operação por 120 e 112 dias, respectivamente. Os reatores foram acondicionados em câmara térmica, com temperatura controlada na faixa mesofílica, isto é, a 35 ± 2 °C, ao longo de toda a operação.

No QUADRO 3.8 são apresentadas as diferentes fases e condições operacionais às quais foram submetidos os reatores durante a aclimação dos lodos ao lixiviado de aterro sanitário.

QUADRO 3.8 – FASES E CONDIÇÕES ADOTADAS DURANTE A OPERAÇÃO DOS REATORES

Fase	Substrato	COV (g DQO/L.d)	TDH (d)	DQO afluente (g O ₂ /L)	Vazão afluente de substrato (L/d)	Duração da fase (d)
1	lixiviado diluído	0,05	10	0,5	0,30	23, para o R1 15, para o R2
2	lixiviado diluído	0,1	10	1,0	0,30	12
3	lixiviado diluído + glicose	0,1	10	1,0	0,30	7
4	lixiviado diluído + glicose	0,2	10	2,0	0,30	7
5	lixiviado diluído + glicose	0,4	10	4,0	0,30	7
6	lixiviado diluído + glicose	0,6	10	6,0	0,30	17
7	lixiviado diluído + glicose	0,6	5	3,0	0,60	9
8	lixiviado diluído + glicose + fosfato	0,6	5	3,0	0,60	10
9	lixiviado diluído + glicose + fosfato	1,0	4	4,0	0,75	14
10	lixiviado puro	1,0	4	4,1	0,75	14

FONTE: a autora (2020)

NOTA: o lixiviado utilizado como substrato ao longo das 10 fases de operação foi aquele armazenado à temperatura ambiente durante seis meses após a coleta

Cada fase foi mantida até que fossem realizadas, no mínimo, duas medições consecutivas com resultados aproximadamente constantes para a concentração da DQO efluente dos reatores, isto é, com coeficiente de variação associado à média resultante inferior a 20%. Em geral, foi observado que as concentrações da DQO efluente dos reatores e, conseqüentemente, os valores de eficiência de remoção da DQO se mantinham estáveis depois de completado o ciclo do TDH. As exceções foram as fases 3, 4 e 5, para as quais a duração da fase foi inferior ao ciclo do TDH e as concentrações da DQO efluente dos reatores não se apresentavam constantes quando a fase foi encerrada.

3.3.2 Monitoramento dos sistemas anaeróbios durante a aclimação ao lixiviado de aterro sanitário

O monitoramento dos sistemas anaeróbios foi realizado mediante determinação de parâmetros físicos, químicos e microbiológicos. Ao longo do tempo e dos ciclos das bateladas, foram quantificados os parâmetros considerados interferentes no processo anaeróbio. Também foram avaliadas as alterações na composição da microbiota metanogênica dos lodos dos reatores ao longo do tempo e em função de diferentes cargas orgânicas e de distintas condições ambientais.

Os métodos utilizados para a determinação dos parâmetros físicos, químicos e biológicos são apresentados no QUADRO 3.9. Os parâmetros de monitoramento de quantidade e qualidade dos lodos anaeróbios utilizaram como amostra alíquotas de 2,0 mL retiradas do fundo dos reatores. Já os demais parâmetros foram determinados utilizando amostras do líquido sobrenadante retirado diariamente dos reatores (efluente).

A partir dos resultados de concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) e em função da temperatura e do pH das amostras de efluente dos reatores, a concentração de amônia livre (NH_3) também foi estimada. Para tal, foi utilizada a ferramenta *Free Ammonia Nitrogen Calculator & Information* (ALLEMAN, 1998).

QUADRO 3.9 – PARÂMETROS DE MONITORAMENTO DOS REATORES ANAERÓBIOS

Parâmetro	Método	Referência	Código do método
Interferentes no processo anaeróbio			
Condutividade ⁽¹⁾	Condutimétrico	Rice et al. - Editores (2012)	2510
Nitrogênio amoniacal total ⁽²⁾	Titulométrico		4500-NH3 F
Ortofosfato ⁽²⁾	Ácido ascórbico		4500-P E
Oxigênio dissolvido ⁽¹⁾	Eletrométrico (sonda multiparamétrica)		4500-O G
Eficiência do processo anaeróbio			
Concentração de glicose ⁽²⁾	Colorimétrico	Dubois et al. (1956)	-
DQO efluente de amostra filtrada ⁽²⁾⁽³⁾	Refluxo fechado – Colorimétrico	Rice et al. - Editores (2012)	5220 D
DQO efluente total ⁽²⁾			
Estabilidade do processo anaeróbio			
Alcalinidade (total/parcial/intermediária); acidez volátil ⁽²⁾	Potenciométrico	DiLallo e Albertson (1961); Ripley et al. (1986)	-
pH ⁽²⁾	Potenciométrico	Rice et al. - Editores (2012)	4500 H+
Quantidade e qualidade do lodo anaeróbio			
Morfologia microbiana e formação de biofilme	Análises de microscopia: óptica de campo claro e de fluorescência e eletrônica de varredura	Rocha (2011); Contrera et al. (2018)	-
Série de sólidos ⁽²⁾	Gravimétrico	Rice et al. - Editores (2012)	2540

FONTE: a autora (2020)

NOTA: (1): parâmetros determinados a partir de uma amostra; (2): parâmetros determinados a partir de duplicatas; (3): as amostras de efluente dos reatores foram filtradas em membrana de fibra de vidro com diâmetro de poro 0,6 µm

As eficiências de remoção da DQO, glicose e ortofosfato foram calculadas a partir da Equação 3.8.

$$\text{Eficiência de remoção (\%)} = \frac{\text{Concentração}_{\text{afluente}} - \text{Concentração}_{\text{efluente}}}{\text{Concentração}_{\text{afluente}}} \times 100 \quad (3.8)$$

As concentrações efluentes foram determinadas por meio dos parâmetros apresentados no QUADRO 3.9. Por outro lado, as concentrações afluentes de DQO e ortofosfato foram estimadas a partir da concentração dos respectivos parâmetros para o lixiviado e do volume de lixiviado alimentado aos reatores, conforme

apresentado na Equação 3.9. Durante as fases 3 a 9 de operação dos reatores, o cálculo da concentração afluyente de DQO incluiu também a DQO e o volume da solução de glicose alimentada ao reator juntamente ao lixiviado.

$$\text{Concentração afluyente} = \frac{\text{Concentração}_{\text{lixiviado puro}} * \text{Volume}_{\text{alimentado de lixiviado puro}}}{\text{Volume}_{\text{total alimentado durante o ciclo de batelada}}} \quad (3.9)$$

3.3.3 Análises de microscopia dos lodos dos reatores

Para que fosse possível observar a formação e a evolução dos biofilmes microbianos, amostras de lodo dos reatores foram processadas para análises de microscopia.

3.3.3.1 Microscopia óptica de campo claro

Alíquotas de lodo de 0,5 mL, aproximadamente, foram retiradas semanalmente de cada um dos reatores. Com o auxílio de uma alça bacteriológica, uma fração do lodo de cada amostra foi transferida para a superfície de uma lâmina de vidro, previamente imersa em HCl 5% (v/v), por 24 horas, e seca. Para distribuir mais adequadamente os flocos biológicos de lodo por toda a superfície da lâmina, foi adicionada uma gota de água destilada em cada amostra. O material foi, então, seco à temperatura ambiente e protegido da luz. Finalmente, as lâminas contendo as amostras de lodo dos reatores foram visualizadas em microscópio óptico Olympus, modelo BX41, em modo de campo claro.

3.3.3.2 Microscopia óptica de fluorescência

O preparo das amostras dos lodos seguiu o mesmo procedimento utilizado para a microscopia óptica de campo claro. As amostras foram visualizadas em microscópio óptico Olympus, modelo BX51, em modo de fluorescência. Foi utilizado o cubo de filtro WU, composto por filtro de excitação na faixa de comprimento de onda de 330-385 nm, espelho dicromático de 400 nm e filtro de emissão de comprimentos de onda superiores a 420 nm. As fotomicrografias foram capturadas por meio da câmera Olympus, modelo DP72, acoplada ao microscópio. A análise foi

realizada no Centro de Tecnologias Avançadas em Fluorescência, do setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.

3.3.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Inicialmente, foi realizado o preparo dos grânulos dos lodos dos dois reatores. Para isso, aproximadamente 1,5 mL de cada lodo foram filtrados a vácuo em membrana de nitrato de celulose, com diâmetro de poro de 0,45 μm , cortada em quadrículos com dimensões 0,5 cm por 0,5 cm. Após a filtração, os quadrículos foram lavados em tampão de fosfato 0,1 M durante cinco minutos.

A seguir, o tampão de fosfato foi descartado e as amostras foram fixadas por imersão em solução de Karnovsky (glutaraldeído 2,5%, formaldeído 4% e tampão de fosfato 0,1 M), durante 4 horas. Subsequentemente, os quadrículos contendo as amostras de lodo foram lavados três vezes com tampão de fosfato 0,1 M. Para realizar a pós-fixação do material, após a lavagem, os quadrículos ficaram imersos em solução de tetróxido de ósmio (10 g/L, dissolvido em tampão de fosfato 0,1 M), por 2 horas, em capela de exaustão de gases. Após este período, foram realizadas mais três lavagens dos quadrículos com tampão de fosfato 0,1 M.

Posteriormente, as amostras foram desidratadas mediante imersão em concentrações crescentes de solução de etanol (30%, 50%, 70% e 90%, todas as percentagens em v/v). As amostras ficaram imersas por 10 minutos em cada solução. Para que a desidratação do material fosse completada, as amostras foram imersas em etanol absoluto durante 10 minutos. O etanol, então, foi descartado, e as amostras recuperadas passaram por equipamento de Ponto Crítico. Em seguida, as amostras foram coladas sobre suportes utilizando fita de carbono e metalizadas com ouro e, finalmente, o material processado foi visualizado em microscópio eletrônico de varredura TESCAN, modelo VEGA3. As etapas de realização do ponto crítico, metalização, visualização das amostras e captura de imagens foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná.

As características morfológicas dos micro-organismos visualizados durante a análise de MEV foram comparadas às apresentadas no *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*, Volume 1: *The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria* (BOONE; CASTENHOLZ – Editores, 2001). Este

procedimento visou à determinação comparativa da presença de alguns grupos taxonômicos microbianos nos dois lodos anaeróbios estudados.

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

No QUADRO 3.10 são apresentadas as análises estatísticas utilizadas ao longo desta pesquisa, bem como os seus respectivos objetivos.

QUADRO 3.10 – ANÁLISES ESTATÍSTICAS UTILIZADAS AO LONGO DA PESQUISA

Tipo	Análise	Objetivo
Estatística descritiva	Média e desvio-padrão	Determinar o valor médio e o desvio-padrão para uma variável a partir dos resultados obtidos para as replicatas
	Shapiro-Wilk	Avaliar se o conjunto de dados seguiu a distribuição normal, permitindo a aplicação de testes paramétricos
Teste de hipóteses	Teste <i>t</i> de Student para duas amostras	Avaliar se houve diferença estatística significativa entre as médias de dois conjuntos de dados
	Teste <i>t</i> de Student pareado	Avaliar se houve diferença estatística significativa entre as médias de dois conjuntos dependentes de dados, referentes a uma mesma população
Análise de variância (ANOVA)	ANOVA de fator único associada ao teste de Bonferroni	Avaliar se houve diferença estatística significativa entre as médias de três ou mais conjuntos de dados

FONTE: a autora (2020)

Com exceção do cálculo das médias e do desvio-padrão, para todas as demais análises, foi definido o nível de confiança de 95%. O *software* Origin®, versão 8.5, foi utilizado para as avaliações e para a elaboração dos gráficos apresentados nas Seções 4.4 e 4.5.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 RESULTADOS PARA A CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO

Os resultados produzidos a partir da avaliação dos parâmetros químicos do lixiviado são apresentados no QUADRO 4.1. As análises foram realizadas em dois momentos, logo após a coleta e decorridos seis meses desta, a fim de avaliar a influência das condições de armazenamento sobre os parâmetros. As médias para cada parâmetro foram obtidas a partir de duplicatas. A diferença estatística entre as médias dos parâmetros obtidas para as duas etapas da caracterização foi avaliada por meio do teste *t* pareado, em nível de confiança de 95%.

QUADRO 4.1 – RESULTADOS PARA A CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO

Classe de parâmetros	Parâmetro	Unidade	Logo após a coleta abr. 2019	Após seis meses nov. 2019	Há diferença significativa entre médias?
			Valor médio \pm d. p.	Valor médio \pm d. p.	
Alcalinidade, acidez volátil e pH	Alcalinidade parcial (AP)	mg CaCO ₃ /L	12.312 \pm 265	8.974 \pm 64	sim
	Alcalinidade intermediária (AI)	mg CaCO ₃ /L	1.000 \pm 177	496 \pm 64	não
	Alcalinidade total (AT)	mg CaCO ₃ /L	13.250 \pm 177	9.470 \pm 0	sim
	Acidez volátil total (AVT)	mg HAc /L	975 \pm 64	896 \pm 0	não
	pH	-	8,93 \pm 0,00	8,67 \pm 0,02	sim
Íons inorgânicos	Cloreto	mg/L	3.336 \pm 17	3.283 \pm 35	não
	Condutividade a 25 °C	mS/cm	36,90 \pm 0,03	35,17 \pm 0,00	sim
Biodegradabilidade	DBO ₅	mg O ₂ /L	2.000 \pm 283	500 \pm 142	sim
	DQO de amostra filtrada	mg O ₂ /L	5.963 \pm 598	4.542 \pm 23	não
	DQO total	mg O ₂ /L	7.141 \pm 591	4.884 \pm 1	não
	Acidez volátil total/ DQO total	-	0,14 \pm 0,02 ⁽¹⁾	0,18 \pm 0,00 ⁽¹⁾	n. d.
	DBO ₅ /DQO total	-	0,28 \pm 0,01 ⁽¹⁾	0,10 \pm 0,03 ⁽¹⁾	n. d.
Nutrientes	Nitrogênio amoniacal total (NAT)	mg NH ₄ ⁺ /L	4.158 \pm 1	3.693 \pm 134	não
	Ortofosfato	mg P/L	16,3 \pm 0,4	4,0 \pm 0,1	sim
	DQO/NAT/P	-	438/255/1	1221/923/1	n. d.

FONTE: a autora (2020)

NOTA: (1): calculado a partir da fórmula de propagação de erros apresentada em Vuolo (1992); n. d.: não determinado; d. p.: desvio-padrão

Todos os resultados das concentrações dos parâmetros químicos para o lixiviado logo após a coleta, com exceção do nitrogênio amoniacal total, encontram-se na faixa de valores já observados para lixiviados brasileiros (SOUTO, 2009; COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019). Os resultados obtidos são também próximos daqueles determinados por Prado (2018), Rietow (2018) e Baettker (2019), para lixiviado oriundo do mesmo aterro sanitário.

Não foram realizados ensaios para determinação de metais no lixiviado, visto que estudos recentes (PRADO, 2018; RIETOW, 2018; BAETTKER, 2019), que caracterizaram o lixiviado com mesma origem, apontaram que as concentrações desses componentes são, em geral, baixas. A maioria dos valores obtidos nesses trabalhos são inferiores, inclusive, aos padrões de lançamento estabelecidos na Resolução CONAMA n° 430/2011. A determinação da concentração de sulfeto no lixiviado também não foi realizada. Embora a concentração desta substância tivesse excedido o limite estabelecido na Resolução CONAMA n° 430/2011 (1,0 mg enxofre/L) em algumas coletas realizadas por Baettker (2019), os valores não são considerados prejudiciais ao processo anaeróbio, visto que a inibição é significativa a partir da concentração de 200 mg/L (MCCARTY, 1964c; SPEECE, 1983). Por razões similares, a concentração de sulfato também não foi determinada.

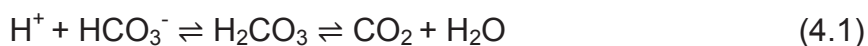
A seguir, são apresentados e discutidos os resultados para as concentrações dos parâmetros para a caracterização do lixiviado, bem como sua implicação no processo anaeróbio, objeto de estudo desta pesquisa. Para melhor compreensão, os parâmetros foram subdivididos em tópicos, conforme a relação química entre eles.

4.1.1.1 Alcalinidade e acidez volátil

Para o lixiviado analisado logo após a coleta, o valor médio da alcalinidade total (AT), 13.250 mg CaCO_3/L , foi devido, principalmente, à alcalinidade parcial (AP), 12.250 mg CaCO_3/L , o que indica grande concentração do íon bicarbonato no lixiviado. Este íon pode vir das reações de degradação da matéria orgânica que ocorrem nas células do aterro e no próprio lixiviado. Após seis meses, período em que o lixiviado ficou armazenado à temperatura ambiente, houve o decréscimo da concentração das alcalinidades parcial (AP), intermediária (AI) e total (8.974 mg CaCO_3/L , 496 mg CaCO_3/L e 9.470 mg CaCO_3/L , respectivamente), embora apenas

as médias das concentrações das AP e AT possam ser consideradas estatisticamente diferentes entre a primeira e a segunda caracterização do lixiviado, em nível de confiança de 95%. Depois de seis meses, a relação entre as concentrações das alcalinidades manteve a mesma tendência, sendo a AP, devida a íons bicarbonato, a principal contribuinte para a AT: aproximadamente 95% do valor da alcalinidade total pode ser atribuído à alcalinidade parcial, enquanto que, logo após a coleta, esta percentagem foi similar, cerca de 93%.

O menor valor encontrado para a concentração da AP após seis meses de armazenamento do lixiviado pode ser atribuído à transformação do íon bicarbonato em CO₂ gasoso, liberado para a atmosfera. O decréscimo da AP pode, inclusive, ser relacionado à diminuição do pH do lixiviado em relação ao analisado logo após a coleta (de 8,93 para 8,67), visto que maiores concentrações do íon hidrogênio (H⁺), associadas a menores valores de pH, deslocam o equilíbrio da reação química a favor da produção de CO₂, conforme a Equação 4.1. O decréscimo da concentração da AP pode também ter contribuído para a consequente redução da AT observada na segunda caracterização do lixiviado.



O valor obtido para a acidez volátil total (AVT) do lixiviado logo após a coleta (975 mg/L como ácido acético - HAc) indica que a concentração de ácidos orgânicos de cadeia curta do lixiviado não foi expressiva a ponto de exercer, por si só, efeito prejudicial sobre a microbiota do tratamento anaeróbio, visto que a inibição associada a estas substâncias foi observada a partir de 2.000 mg/L (BARKER, 1956). A mesma consideração pode ser estendida para a concentração da AVT após seis meses, pois o resultado obtido para a segunda caracterização do lixiviado foi de 896 mg HAc/L, valor que está abaixo da concentração considerada inibitória.

Em nível de confiança de 95%, não houve diferença significativa entre as concentrações médias da AVT logo após a coleta e após os seis meses de armazenamento do lixiviado (975 mg HAc/L e 896 mg HAc/L, respectivamente). Da mesma forma, a alcalinidade intermediária, que pode ser atribuída em grande parte à presença de ânions de ácidos orgânicos, não apresentou diferença significativa

entre as médias das duas caracterizações, para o mesmo nível de confiança (1.000 mg CaCO₃/L e 496 mg CaCO₃/L, respectivamente).

4.1.1.2 Íons inorgânicos

A condutividade medida para o lixiviado logo após a coleta foi de 36,90 mS/cm (ou 36.900 µS/cm), a 25 °C, relativamente próxima ao valor máximo já observado para lixiviados de aterros brasileiros (45.000 µS/cm, de acordo com Souto, 2009). Já após seis meses, durante a recharacterização do lixiviado, o valor obtido foi de 35,17 mS/cm. A elevada condutividade pode estar relacionada à grande concentração de sais dissolvidos e íons inorgânicos presentes no lixiviado, o que pode levar à inibição da microbiota do tratamento anaeróbio desta água residuária (MCCARTY; MCKINNEY, 1961a, b; MCCARTY, 1964c).

Segundo Ehrig (1989), a concentração de íons inorgânicos do lixiviado se mantém aproximadamente constante, independentemente do tempo. Entretanto, neste estudo, ao comparar as médias dos valores de condutividade obtidos em dois momentos distintos (36,90 mS/cm e 35,17 mS/cm, respectivamente), foi determinado que elas podem ser consideradas significativamente diferentes, em nível de confiança de 95%. A redução do valor da condutividade em função do armazenamento pode ser decorrente do consumo dos ácidos orgânicos e seus ânions associados e de outros íons assimiláveis por micro-organismos eventualmente presentes no lixiviado.

Outro íon presente em elevadas concentrações no lixiviado e que contribui para a elevada condutividade é o cloreto (Cl⁻). A concentração média de íons cloreto (Cl⁻) no lixiviado em estudo, após a coleta, foi de 3.336 mg/L, e está dentro da faixa de valores já observados para lixiviados de outros aterros sanitários brasileiros (SOUTO, 2009; COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019). A concentração média de íons cloreto obtida após seis meses decorridos da coleta foi de 3.283 mg/L e não pode ser considerada diferente da média anterior, para nível de confiança de 95%. Esta observação está de acordo com os resultados obtidos por Ehrig (1989), que indicaram que a concentração de cloreto permanece relativamente constante no lixiviado, independentemente do tempo.

4.1.1.3 Biodegradabilidade do lixiviado de aterro sanitário

a) DQO, DBO₅ e relação DBO₅/DQO

Para o lixiviado estudado, a DQO média total foi inicialmente de 7.141 mg O₂/L, resultado que se enquadra na faixa de valores observados para lixiviados brasileiros (SOUTO, 2009; COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019). Para esta primeira caracterização, a DQO filtrada, que considerou apenas a matéria orgânica dissolvida, foi de 5.963 mg O₂/L, o que corresponde a aproximadamente 80% da DQO total. Embora não possam ser consideradas significativamente diferentes em relação aos resultados da primeira análise, em nível de confiança de 95%, as concentrações médias da DQO total e DQO de amostra filtrada obtidas para a caracterização do lixiviado após seis meses foram de 4.884 e 4.542 mg/L, o que corresponde, respectivamente, a 70% e 76% dos valores obtidos logo após a coleta. Estes dados sugerem que ocorreu a degradação da matéria orgânica biodegradável do lixiviado durante o armazenamento, como corroboram os resultados para a DBO₅.

O resultado médio para a DBO₅ logo após a coleta foi de 2.000 mg O₂/L. Já para a recharacterização do lixiviado, a concentração média de DBO₅ obtida foi de 500 mg O₂/L, valor 75% menor que o determinado após a coleta. Estas médias, obtidas em etapas diferentes da caracterização, são, inclusive, significativamente diferentes entre si, para nível de confiança de 95%. Esses resultados indicam que houve a significativa redução da concentração de matéria orgânica biodegradável do lixiviado em função das condições de armazenamento.

O valor obtido para a média da relação DBO₅/DQO obtida logo após a coleta (0,28), indica a biodegradabilidade intermediária do lixiviado, de acordo com Ehrig (1989) e Renou e colaboradores (2008). Entretanto, a relação DBO₅/DQO obtida após seis meses foi de apenas 0,10, o que caracteriza o lixiviado como recalcitrante e indica que a maior parte da matéria orgânica biodegradável ainda presente no lixiviado no momento da coleta foi consumida durante o período de armazenamento. Este valor de relação DBO₅/DQO (0,10) foi observado para lixiviados provenientes de aterros considerados “velhos” e para os quais não se recomenda o tratamento por sistemas biológicos (EHRIG, 1989; RENOU et al., 2008).

b) Relação AVT/DQO total

A relação entre a AVT e a DQO total pode ser utilizada como indicador da biodegradabilidade de um lixiviado, conforme proposto por Contrera e colaboradores (2015). Os autores obtiveram valor elevado para a correlação entre a relação AVT/DQO total e a biodegradabilidade anaeróbia do lixiviado.

Para o lixiviado avaliado nesta pesquisa, os valores obtidos para a relação AVT/DQO foram de 0,14, após a coleta, e de 0,18, para a etapa de recaracterização. Segundo Contrera e colaboradores (2015), quando o valor da relação é inferior a 0,20, como observado neste estudo, a biodegradabilidade do lixiviado pode ser considerada baixa e, caso seja tratado por processo anaeróbio, levar à falha operacional dos sistemas associados. Este fato pode ser explicado pela relevância dos ácidos orgânicos de cadeia curta, abrangidos na medição da AVT, como matéria orgânica biodegradável do lixiviado. Os ácidos orgânicos de cadeia curta são substratos para a microbiota do processo anaeróbio, e se a sua concentração for reduzida, em comparação à quantidade total de matéria orgânica estimada por meio da DQO, o lixiviado provavelmente apresentará características de recalcitrância.

Dessa forma, a partir dos resultados obtidos para as relações DBO_5/DQO e AVT/DQO total, é possível afirmar que o lixiviado utilizado neste estudo estava recalcitrante após o armazenamento durante seis meses à temperatura ambiente.

4.1.1.4 Nutrientes: nitrogênio e fósforo

De acordo com Speece (1983), pode ser considerada a seguinte ordem de importância para os nutrientes que devem ser disponibilizados à microbiota do tratamento anaeróbio: carbono, nitrogênio (na forma amoniacal) e fósforo (na forma de ortofosfato). Durante a aclimação da microbiota e/ou partida de um sistema anaeróbio, recomenda-se que estas substâncias sejam fornecidas na proporção entre DQO (que indica, indiretamente, a concentração de matéria orgânica carbonácea), nitrogênio e fósforo ($DQO/N/P$) de 300/5/1 (ANNACHHATRE, 1996).

Ao relacionar os valores da concentração da DQO total, do nitrogênio amoniacal total (NAT) e do ortofosfato, determinados para o lixiviado imediatamente após a coleta, a razão entre os três fatores resultou em 7141/4158/16,3 ou, aproximadamente, 438/255/1 (unidades em mg/L). Observa-se, portanto, que havia

o desequilíbrio da relação recomendada entre nutrientes para o processo anaeróbio. Isso se deu, sobretudo, devido à elevada concentração de nitrogênio amoniacal e à baixa concentração de ortofosfato do lixiviado. Ambos, neste caso, poderiam exercer efeito inibitório sobre a microbiota do tratamento anaeróbio. Enquanto a importância do NAT, neste estudo, esteve associada ao excesso, a do ortofosfato esteve relacionada à insuficiência. Para a relação DQO/NAT/P do lixiviado armazenado, a relação obtida foi de 1221/923/1, ainda mais desfavorável do que para o lixiviado recém-coletado. Isso se deve principalmente à diminuição da concentração do ortofosfato em função do tempo de armazenamento.

O resultado da comparação entre as concentrações médias de ortofosfato no lixiviado, obtidas para as duas etapas da caracterização, aponta que, para um nível de confiança de 95%, existiu diferença significativa entre os valores. A concentração do ortofosfato diminuiu consideravelmente durante o armazenamento do lixiviado, restando, após seis meses, apenas 24% da concentração inicial, determinada logo após a coleta. De acordo com Ehrig (1989), a concentração de fósforo total no lixiviado mantém-se constante ao longo do tempo. Logo, o ortofosfato foi, provavelmente, convertido a uma outra forma. Como este é um nutriente facilmente assimilável, pode ter sido consumido pelos micro-organismos presentes no próprio lixiviado, tornando-se fósforo orgânico. Também pode ter sido combinado a outros elementos, como o cálcio, tornando o fosfato insolúvel.

De acordo com observações de Ehrig (1989), outro componente do lixiviado cuja concentração permanece constante ao longo do tempo é o NAT. Neste estudo, a concentração do NAT também não foi significativamente afetada pelas condições e período de armazenamento. Para o nível de confiança de 95%, não há diferença significativa entre as concentrações médias de NAT determinadas após a coleta, 4.158 mg NH_4^+ /L, e após decorridos seis meses de armazenamento, 3.693 mg NH_4^+ /L. A pequena redução na concentração deste parâmetro pode ser atribuída à perda por volatilização da amônia livre (NH_3), constituinte do NAT.

Como a concentração de NAT do lixiviado estudado poderia exercer inibição, foi necessária a adaptação prévia da microbiota a esta água residuária. Além disso, no momento da inoculação dos reatores de bancada, o lixiviado apresentava características de recalcitrância, conforme apresentado na Sessão 4.1.1.3. Por outro lado, o lixiviado manteve concentração elevada de alcalinidade, fator necessário

para a manutenção da estabilidade do processo anaeróbio. Visando avaliar mais profundamente a tratabilidade do lixiviado por processo anaeróbio, os resultados da caracterização química foram complementados por meio da realização de bioensaios, a serem apresentados em seguida.

4.2 RESULTADOS PARA A CARACTERIZAÇÃO DOS LODOS ANAERÓBIOS

Os resultados para a caracterização dos lodos são apresentados a seguir. As análises, assim como para o lixiviado, foram realizadas em duas etapas, após a coleta e decorridos seis meses do armazenamento dos lodos a 4 °C.

4.2.1 Série de sólidos

Visando à caracterização dos lodos coletados, foram realizados ensaios para a determinação da série de sólidos totais, voláteis totais e fixos totais. Os resultados são apresentados no QUADRO 4.2, para o Lodo 1, e no QUADRO 4.3, para o Lodo 2. Os desvios-padrões amostrais foram calculados com base nos resultados obtidos para a duplicata do Lodo 1 e triplicata do Lodo 2. O teste *t* pareado foi utilizado para avaliar se houve diferença significativa entre as médias obtidas para as duas etapas de caracterização de cada lodo. O nível de confiança foi estabelecido em 95%. Por outro lado, para a comparação entre as médias de concentrações de sólidos obtidas para os dois lodos, foi utilizado o teste *t* para amostras independentes, em nível de confiança de 95%.

QUADRO 4.2 – RESULTADOS PARA A SÉRIE DE SÓLIDOS DO LODO 1

	Logo após a coleta abr. 2019	Após seis meses nov. 2019	Há diferença significativa entre médias?
Parâmetro	Valor médio \pm d. p.	Valor médio \pm d. p.	
Sólidos totais (ST)	20,28 \pm 0,01	43,53 \pm 3,59	não
Sólidos voláteis totais (SVT)	8,72 \pm 0,40	14,03 \pm 0,13	sim
Sólidos fixos totais (SFT)	11,56 \pm 0,42	29,51 \pm 3,46	não
SVT/ST	0,43 \pm 0,02	0,32 \pm 0,02	não

FONTE: a autora (2020)

NOTA: todas as unidades em g/L, exceto para a relação SVT/ST, adimensional; d. p.: desvio-padrão

QUADRO 4.3 – RESULTADOS PARA A SÉRIE DE SÓLIDOS DO LODO 2

	Logo após a coleta abr. 2019	Após seis meses nov. 2019	Há diferença significativa entre médias?
Parâmetro	Valor médio \pm d. p.	Valor médio \pm d. p.	
Sólidos totais (ST)	36,78 \pm 5,46	132,40 \pm 1,77	sim
Sólidos voláteis totais (SVT)	21,59 \pm 3,34	58,43 \pm 1,10	sim
Sólidos fixos totais (SFT)	15,19 \pm 2,24	73,98 \pm 0,85	sim
SVT/ST	0,59 \pm 0,02	0,44 \pm 0,00	sim

FONTE: a autora (2020)

NOTA: todas as unidades em g/L, exceto para a relação SVT/ST, adimensional; d. p.: desvio-padrão

4.2.1.1 Comparação entre os resultados da série de sólidos em função do armazenamento

A partir dos resultados apresentados nos QUADROS 4.2 e 4.3, observa-se que para ambos os lodos houve aumento da concentração de ST, SVT e ST em função do período de armazenamento a 4 °C. Para o Lodo 1, entretanto, apenas a concentração de SVT pode ser considerada significativamente diferente da obtida logo após a coleta, sendo 61% maior que o valor inicial. Para o Lodo 2, as médias de todas as concentrações de sólidos (ST, SVT e SFT) podem ser consideradas significativamente maiores que aquelas determinadas após a coleta, em nível de confiança de 95%. Para o Lodo 2, o aumento das concentrações em relação às determinadas logo após a coleta foi de 260%, para os ST, 170%, para os SVT, e 387% para os SFT.

O aumento nos valores das concentrações de ST, SVT e SFT para os dois lodos em função do armazenamento pode ser atribuído à perda de umidade e ressecamento das alíquotas dos lodos que estavam sob refrigeração. Entretanto, o valor da relação SVT/ST diminuiu aproximadamente 25% para ambos os lodos, após o armazenamento. Este resultado, a diminuição da relação SVT/ST, indica que a concentração de SVT aumentou para os dois lodos após seis meses, mas não acompanhou o incremento da concentração de ST na mesma proporção, levando à diminuição do valor para a relação SVT/ST em comparação ao inicial. Isso sugere, por vez, que possa ter ocorrido a perda da matéria orgânica e/ou de células microbianas dos dois lodos, contabilizadas como parte dos SVT, decorrente das condições de armazenamento.

4.2.1.2 Comparação entre os resultados para os sólidos dos Lodos 1 e 2

A comparação foi realizada apenas para as amostras dos lodos analisadas logo após a coleta.

Conforme apresentado no QUADRO 4.3, o valor médio obtido para a concentração de ST do Lodo 2 foi de 36,78 g/L. Este valor é significativamente maior, em nível de confiança de 95%, do que o determinado para o Lodo 1, 20,28 g/L. Como o Lodo 2 foi coletado de reator UASB, a maior concentração de ST pode ser explicada pela sua forma granular, que contém, além da biomassa microbiana e pequena quantidade de areia e material mineral, componentes da matriz extracelular (LETTINGA et al., 1980; MACLEOD; GUIOT; COSTERTON, 1990).

Os valores das concentrações de SFT para os dois lodos (11,56 g/L, para o Lodo 1, e 15,19 g/L, para o Lodo 2) não podem ser considerados diferentes entre si, em nível de confiança de 95%. Por outro lado, para a concentração de SVT, os resultados para os dois lodos são significativamente diferentes, para o mesmo nível de confiança. A maior concentração de SVT para o Lodo 2 (21,59 g/L) em relação ao Lodo 1 (8,72 g/L) pode ser atribuída ao mesmo fator apresentado anteriormente, isto é, por ser proveniente de reator UASB, o Lodo 2 tendeu a formar grânulos, cuja matriz extracelular pode ter contribuído para aumento na concentração dos SVT.

A relação SVT/ST é frequentemente utilizada para caracterizar lodos quanto à quantidade dos micro-organismos que os compõem (CHERNICHARO, 2016). Entre os lodos avaliados, aquele que apresentou o maior valor para a relação SVT/ST foi o Lodo 2 (0,59), resultado significativamente maior que o obtido para o Lodo 1 (0,43), em nível de confiança de 95%. Os resultados da relação SVT/ST sugerem que o Lodo 2 teria maior concentração de micro-organismos que o Lodo 1, o que não foi corroborado pelos resultados para a atividade metanogênica específica, apresentados a seguir. A não correlação entre a relação SVT/ST e a atividade metanogênica específica para os lodos anaeróbios estudados já havia sido previamente observada e foi reportada por Latocheski e Braga (2019).

4.2.2 Atividade metanogênica específica (AME)

Os resultados para a atividade metanogênica específica (AME) dos dois lodos, avaliados posteriormente à coleta e após seis meses sob refrigeração, são

apresentados no QUADRO 4.4. O ensaio da AME foi realizado em duplicata para cada lodo. O teste *t* pareado foi utilizado para comparar as médias da AME obtidas para o mesmo lodo, porém determinadas em momentos distintos, e o teste *t* para amostras independentes foi aplicado para a comparação entre as médias da AME para os dois lodos. Para ambos os testes, foi definido um nível de confiança de 95%.

QUADRO 4.4 – ATIVIDADE METANOGENÉTICA ESPECÍFICA DOS LODOS 1 E 2

	Logo após a coleta abr. 2019	Após seis meses nov. 2019	Há diferença significativa entre as médias para o mesmo lodo?
Lodo	Valor médio \pm d. p. ($g_{DQO}/g_{SVT} \cdot d$)	Valor médio \pm d. p. ($g_{DQO}/g_{SVT} \cdot d$)	
Lodo 1 – lagoa facultativa	$0,697 \pm 0,129$	$0,727 \pm 0,136$	não
Lodo 2 – reator UASB	$0,474 \pm 0,047$	$0,149 \pm 0,210$	não

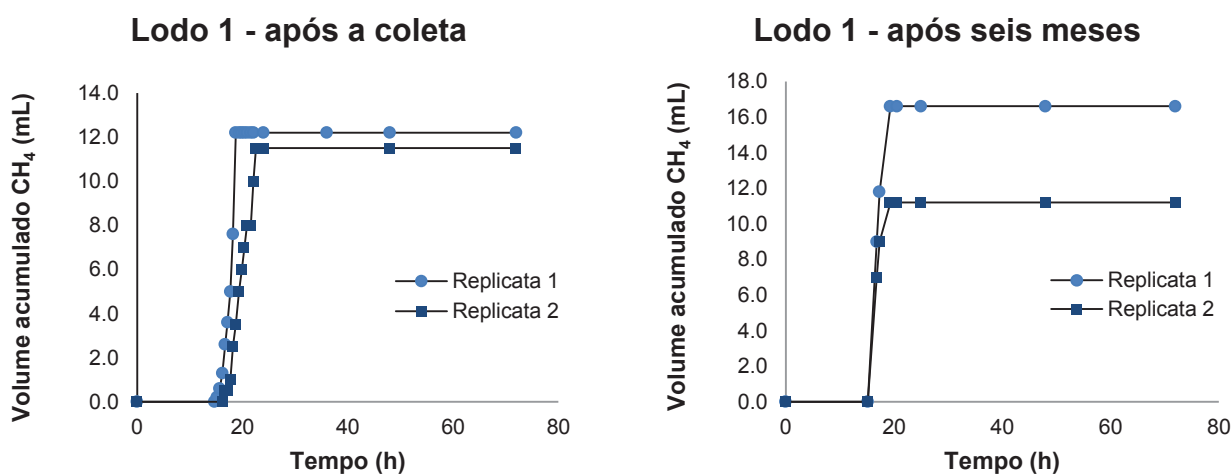
FONTE: a autora (2020)

NOTA: d. p.: desvio-padrão

4.2.2.1 Comparação entre os resultados da AME em função do armazenamento

Os valores médios da AME obtidos para o Lodo 1 quando analisado logo após a coleta ($0,697 \text{ } g_{DQO}/g_{SVT} \cdot d$) e após seis meses sob refrigeração ($0,727 \text{ } g_{DQO}/g_{SVT} \cdot d$) não são significativamente diferentes entre si, para nível de confiança de 95%. Os gráficos do volume acumulado de metano em função do tempo para o Lodo 1 são apresentados na FIGURA 4.1.

FIGURA 4.1 – PRODUÇÃO ACUMULADA DE CH_4 VERSUS TEMPO DE ENSAIO PARA O LODO 1

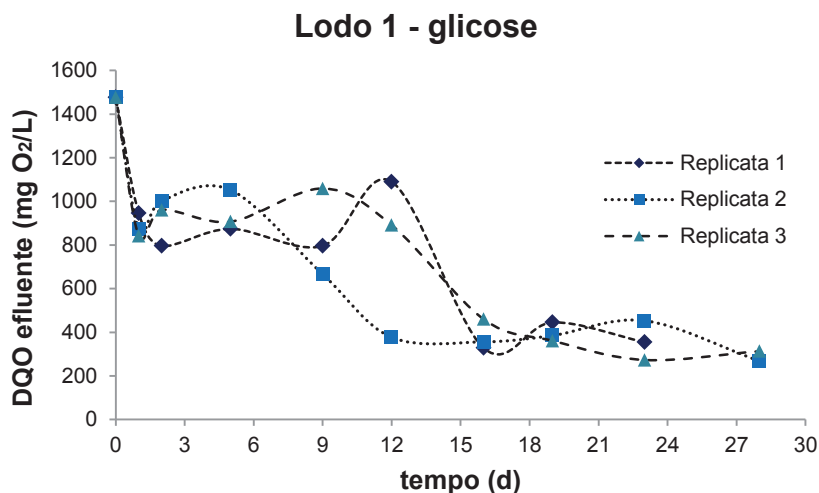


FONTE: a autora (2020)

Conforme observado a partir da comparação entre os dois gráficos apresentados na FIGURA 4.1, o armazenamento do Lodo 1 durante seis meses parece não ter afetado o período de adaptação dos micro-organismos ao substrato (solução de glicose), visto que o início da produção de gás ocorreu entre 16 e 24 horas em ambas as análises. Para ambos os casos, o volume acumulado de CH_4 permaneceu estável após três dias do início do ensaio. As condições e o período de armazenamento também não afetaram o volume acumulado de CH_4 , cujo valor médio foi 11,8 mL para o ensaio realizado logo após a coleta e 13,9 mL para a análise realizada após seis meses.

Durante a realização do bioensaio para a determinação da DQO solúvel inerte (Seção 4.3.1), foi observado que, quando alimentado com solução de glicose, o Lodo 1 apresentava intensa atividade metabólica durante as primeiras 24 horas, evidenciada pela brusca redução da DQO no primeiro dia do ensaio. Porém, após o primeiro dia, foi observado, novamente, aumento da concentração da DQO, provavelmente devido ao acúmulo de ácidos orgânicos e de produtos da degradação microbiana no meio reacional. Entre sete e 12 dias, aproximadamente, a concentração da DQO voltou a diminuir, o que indica possível atividade metabólica da microbiota metanogênica após este período. Na FIGURA 4.2 são apresentados os resultados para a determinação da concentração da DQO ao longo do tempo para os experimentos realizados durante o bioensaio para a DQO inerte. O substrato utilizado foi glicose, assim como para o ensaio da determinação da AME. Cada curva corresponde a uma replicata.

FIGURA 4.2 – PERFIL DE REMOÇÃO DA DQO PARA O LODO 1



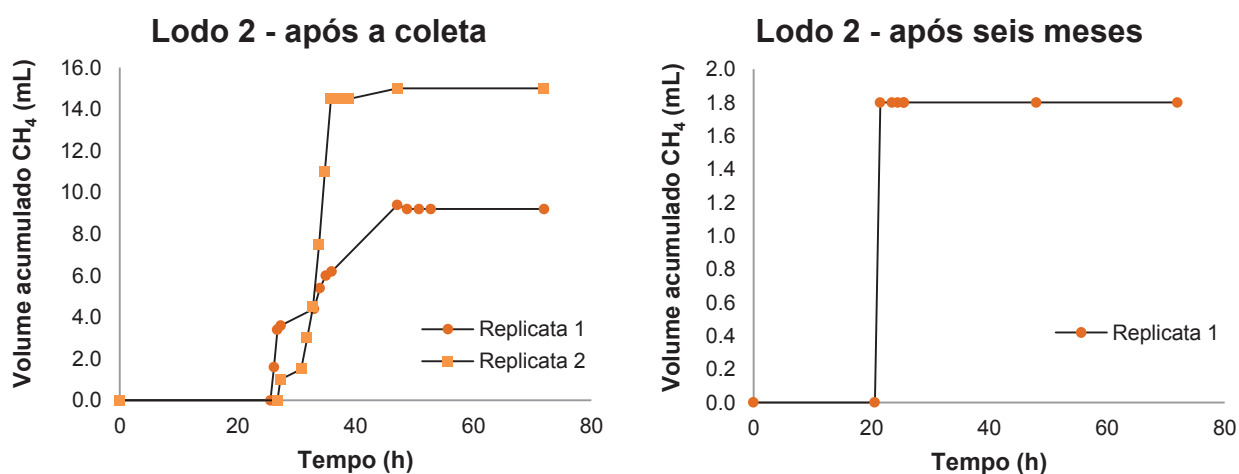
FONTE: a autora (2020)

Como a atividade metabólica do Lodo 1 apresentou a tendência de maior intensidade nas primeiras 24 horas, devido ao rápido consumo da glicose pelos micro-organismos acidogênicos, é provável que outros gases além do CH_4 , como o CO_2 , tenham sido produzidos nos frascos de reação e medidos durante os primeiros dias de ensaio da AME. Como sugerem os resultados para a DQO solúvel inerte para o Lodo 1 quando alimentado com glicose (FIGURA 4.2), a atividade metabólica da microbiota metanogênica do Lodo 1 se tornou relevante apenas entre o 7° e o 12° dias de ensaio. Entretanto, ao monitorar a produção de gás durante o ensaio da AME por um período maior, isto é, mais do que sete dias, não foi possível detectar a produção de CH_4 , o que pode ser atribuído a uma limitação do sistema experimental.

Para o Lodo 2, os valores médios da AME para as duas etapas de caracterização (0,474 $\text{g}_{\text{DQO}}/\text{g}_{\text{SVT}}\cdot\text{d}$, após a coleta; 0,149 $\text{g}_{\text{DQO}}/\text{g}_{\text{SVT}}\cdot\text{d}$, após seis meses) não são significativamente diferentes entre si, em nível de confiança de 95%. Porém, foi obtido, para a segunda análise, grande desvio-padrão (0,210 $\text{g}_{\text{DQO}}/\text{g}_{\text{SVT}}\cdot\text{d}$). O ensaio da AME foi realizado em duplicata para o Lodo 2, mas a produção de gás foi detectada para apenas uma replicata. Como o valor da AME para a segunda replicata foi nulo, o desvio-padrão resultou elevado. Isso pode ser atribuído a limitações do sistema experimental, visto que está sujeito a vazamentos e perdas do gás produzido nos frascos de reação.

Os gráficos que relacionam a produção acumulada de CH_4 ao tempo de ensaio para o Lodo 2 são apresentados na FIGURA 4.3.

FIGURA 4.3 – PRODUÇÃO ACUMULADA DE CH_4 VERSUS TEMPO DE ENSAIO PARA O LODO 2

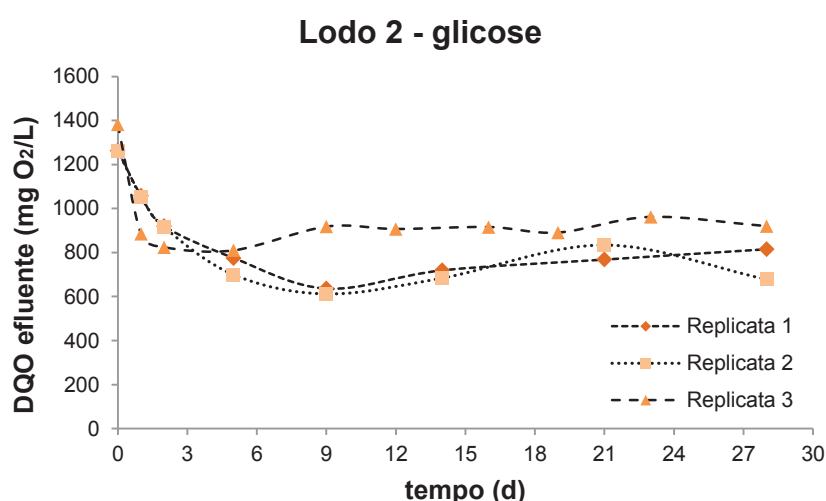


FONTE: a autora (2020)

Para o Lodo 2, assim como para o Lodo 1, o período e as condições de armazenamento parecem não ter influenciado no tempo necessário para a adaptação da microbiota ao substrato. Em ambas as análises, para o Lodo 2, a produção de gás teve início a partir de, aproximadamente, 24 horas decorridas do início do ensaio e permaneceu constante após três dias. Entretanto, o volume acumulado de CH_4 obtido para a replicata analisada após seis meses da coleta foi de 1,8 mL, ou seja, cerca de sete vezes menor do que o volume médio acumulado para o lodo logo após a coleta (12,1 mL). Este resultado sugere que o período e as condições de armazenamento afetaram a atividade metabólica microbiana, em particular a metanogênica, avaliada durante o ensaio da AME para o Lodo 2.

As mesmas considerações apresentadas para o Lodo 1 podem ser estendidas ao Lodo 2. Ao avaliar o perfil da redução da concentração da DQO em função do tempo, para o Lodo 2, ao longo do bioensaio para a determinação da DQO solúvel inerte (FIGURA 4.4), foi observado que a atividade metabólica da microbiota deste lodo foi máxima após o quinto dia do ensaio. Logo, os resultados obtidos para a AME, cuja produção de gás foi detectada a partir de 20 horas e se estendeu por 72 horas, podem incluir gases que não o CH_4 . Após o terceiro dia de ensaio da AME, não foi detectada a produção de gás, o que pode ser associado às limitações do aparato experimental utilizado, como discutido anteriormente.

FIGURA 4.4 – PERFIL DE REMOÇÃO DA DQO PARA O LODO 2



FONTE: a autora (2020)

Cabe ressaltar que os resultados para a AME foram normalizados pela concentração de SVT dos lodos. Para o ensaio de AME realizado após a coleta, os

resultados foram normalizados pelas concentrações de SVT obtidas para aquela mesma etapa de caracterização. Da mesma forma, a normalização utilizou os resultados para a AME e para as concentrações de SVT obtidas após seis meses de armazenamento dos lodos. Embora a concentração de SVT tenha aumentado para ambos os lodos após seis meses, a AME ou permaneceu similar, como para o Lodo 1, ou diminuiu, caso do Lodo 2. Isso ressalta outra limitação do ensaio para a determinação da AME, a dependência dos SVT como medida inespecífica para a concentração da microbiota dos lodos. Esta discussão será aprofundada a seguir.

4.2.2.2 Comparação entre os resultados para a AME dos Lodos 1 e 2

Em nível de confiança de 95%, o resultado do teste *t* indica que não há diferença estatística significativa entre as médias da AME dos Lodos 1 e 2, obtidas para a primeira etapa de caracterização.

Mesmo que os valores da AME para os dois lodos não possam ser considerados estatisticamente diferentes entre si, um dos fatores que pode explicar as variações nos resultados é a normalização da taxa de produção de metano pela massa de SVT de cada lodo, como sugerido por Tale e colaboradores (2011). Ao comparar as AMEs de 14 lodos anaeróbios, os autores obtiveram resultados cujos valores diferiram entre si por até duas ordens de magnitude, o que foi atribuído à grande variabilidade na fração microbiana ativa presente nos sólidos voláteis de lodos distintos. Essas diferenças na quantidade de micro-organismos ativos incorporados aos sólidos voláteis de lodos diferentes pode, inclusive, ser uma possível explicação para as divergências entre os resultados de SVT/ST e da AME obtidos neste estudo.

Neste trabalho, para a análise realizada logo após a coleta, o Lodo 2 apresentou relação SVT/ST de 0,59, maior que para o Lodo 1, 0,43, sendo as médias estatisticamente diferentes para nível de confiança de 95%. Caso a relação SVT/ST fosse adequada como parâmetro indicador da concentração de micro-organismos ativos, a expectativa seria observar a mesma tendência de ordem para os lodos quanto aos resultados da AME. No entanto, o Lodo 1 apresentou valor médio da AME de 0,697 g_{DQO}/g_{SVT}.d, maior do que o para o Lodo 2, 0,474 g_{DQO}/g_{SVT}.d, para a mesma etapa de análise.

Ainda que os resultados da AME não possam ser considerados estatisticamente diferentes para os dois lodos, a tendência observada para a AME contraria a expectativa levantada pela relação SVT/ST dos lodos. Isso sugere que, neste estudo, assim como recomendado por Venkiteshwaran e colaboradores (2017), a relação SVT/ST não possa ser correlacionada à concentração de micro-organismos ativos do lodo. Para esta pesquisa, o maior valor observado para a relação SVT/ST para o Lodo 2, proveniente de reator UASB, pode ser devido à matéria orgânica inerte, não microbiana, que é incorporada aos grânulos desse lodo.

Sugere-se, finalmente, que a normalização dos resultados para a AME seja realizada não pela concentração de SVT, mas pela utilização de parâmetros que reflitam de maneira mais específica a concentração microbiana de um lodo. Exemplos desses parâmetros são a concentração de material genético (DNA) ou de adenosina trifosfato (ATP), moléculas presentes apenas em células microbianas.

Ainda assim, a principal vantagem do ensaio para a determinação da AME é permitir a obtenção de uma resposta relativamente rápida acerca da viabilidade de um lodo anaeróbio. Para esta pesquisa, os resultados da AME indicaram que os Lodos 1 e 2 ainda mantinham atividade metabólica, mesmo após o período de armazenamento de seis meses, podendo ser utilizados para inocular os reatores de bancada utilizados na aclimatação da microbiota ao lixiviado.

4.2.3 Resultados para a DQO, alcalinidade e acidez volátil total

Para avaliar uma possível produção tardia de CH_4 , durante a etapa de recharacterização dos lodos, que aconteceu seis meses após a coleta, os frascos de reação utilizados para o ensaio da AME foram mantidos em câmara térmica, a 35 °C, por 21 dias. Contudo, conforme previamente relatado, não foi detectada produção de CH_4 após três dias de ensaio. Logo, de forma a complementar os resultados para a AME e avaliar de maneira mais aprofundada a capacidade metabólica dos lodos de degradarem o substrato utilizado (glicose), foram realizadas análises para a determinação da concentração da DQO, das alcalinidades parcial, intermediária e total e da acidez volátil total do sobrenadante dos frascos de reação.

Os resultados para a DQO do sobrenadante dos frascos de reação inoculados com os Lodos 1 e 2 são apresentados na TABELA 4.1. Para reter partículas de lodo que poderiam interferir nos resultados, as amostras foram filtradas

previamente à determinação da concentração da DQO, em membrana de fibra de vidro com diâmetro de poro de 0,6 μm . As médias e desvios-padrões para os dois lodos foram calculados a partir de quadruplicatas, isto é, para cada duplicata biológica (frasco de reação) do mesmo lodo, a concentração da DQO do sobrenadante foi determinada em duplicata.

TABELA 4.1 – CONCENTRAÇÃO DA DQO APÓS O ENSAIO DA AME

Lodo	DQO _{sobrenadante} \pm d. p. (mg O ₂ /L)	Eficiência média de remoção da DQO (%)
Lodo 1 – lagoa facultativa	161 \pm 12	93
Lodo 2 – reator UASB	928 \pm 64	55

FONTE: a autora (2020)

NOTA: d. p.: desvio-padrão

As eficiências médias de remoção da DQO pelos dois lodos (93%, para o Lodo 1, e 55%, para o Lodo 2) são significativamente diferentes entre si, em nível de confiança de 95%, conforme avaliado pelo teste *t*. Para a determinação das eficiências de remoção de DQO, considerou-se como DQO_{afluente} o equivalente em massa da DQO da solução de glicose adicionada a cada frasco (400 mg DQO/frasco), dividida pelo volume de líquido em cada frasco (171,1 mL para o Lodo 1 e 193,1 mL para o Lodo 2). Os volumes inoculados dos lodos não foram considerados. Dessa forma, a DQO_{afluente} para o Lodo 1 foi de 2.340 mg O₂/L e para o Lodo 2 de 2.072 mg O₂/L.

O Lodo 1 apresentou maior eficiência de remoção da DQO que o Lodo 2. Uma explicação possível para a diferença de desempenho entre os lodos é o acúmulo de ácidos orgânicos nos frascos que continham o Lodo 2, conforme indicado pelos resultados para as alcalinidades e acidez volátil total, apresentados na TABELA 4.2. As médias e desvios-padrões foram determinados a partir dos valores obtidos para duplicatas para cada lodo.

TABELA 4.2 – ALCALINIDADE E ACIDEZ VOLÁTIL APÓS O ENSAIO DA AME

Lodo	AP \pm d. p. (mg CaCO ₃ /L)	Al \pm d. p. (mg CaCO ₃ /L)	AT \pm d. p. (mg CaCO ₃ /L)	AVT \pm d. p. (mg HAc/L)
Lodo 1 – lagoa facultativa	667,4 \pm 0,0	63,1 \pm 12,8	730,6 \pm 12,8	136,8 \pm 4,3
Lodo 2 – reator UASB	198,4 \pm 0,0	225,5 \pm 12,8	423,9 \pm 12,8	757,2 \pm 25,8

FONTE: a autora (2020)

NOTA: d. p.: desvio-padrão

As médias para todos os parâmetros apresentados na TABELA 4.2 são significativamente diferentes entre os Lodos 1 e 2, de acordo com o teste *t* em nível de confiança de 95%.

A AVT para o Lodo 2 (757,2 mg HAc/L) é cerca de 5,5 vezes maior do que para o Lodo 1 (136,8 mg HAc/L), o que indica que houve o acúmulo de ácidos orgânicos de cadeia curta nos frascos que continham o Lodo 2. Este resultado sugere que as comunidades sintrófica e/ou metanogênica presentes no Lodo 2, após seis meses de armazenamento, apresentaram capacidade limitada de remoção desses ácidos do meio reacional e posterior conversão da matéria orgânica a metano. Os valores obtidos para a alcalinidade intermediária, 63,1 mg CaCO₃/L, para o Lodo 1, e 225,5 mg CaCO₃/L, para o Lodo 2, reforçam esta observação, pois, com boa aproximação, a AI estima a concentração de ânions de ácidos orgânicos.

Por outro lado, para compensar a concentração de ácidos orgânicos acumulados, as concentrações inferiores da AP e da AT apresentadas para o Lodo 2 (AP igual a 198,4 mg CaCO₃/L; AT igual a 423,9 mg CaCO₃/L) em relação ao Lodo 1 (AP igual a 667,4 mg CaCO₃/L; AT igual a 730,6 mg CaCO₃/L) sugerem que houve consumo da alcalinidade pela microbiota do Lodo 2 a fim de compensar a concentração de ácidos orgânicos acumulados. A mesma tendência de acúmulo de acidez volátil e consequente redução da eficiência de remoção da DQO para o Lodo 2 foi observada durante a operação dos reatores de bancada, nos quais os lodos aqui avaliados foram inoculados.

Assim, como encerramento da etapa de caracterização dos lodos, ressalta-se a falta de especificidade da concentração de SVT e da relação SVT/ST como indicadores da concentração de micro-organismos de um lodo. Quanto à determinação da AME, apesar das limitações destacadas, os resultados obtidos permitiram observar que os dois lodos anaeróbios apresentaram viabilidade para inoculação nos reatores de bancada, mesmo após o período de armazenamento de seis meses. Os resultados para a AME foram complementados por outros bioensaios, apresentados e discutidos a seguir.

4.3 RESULTADOS PARA OS BIOENSAIOS

Os resultados para os bioensaios realizados ao longo desta pesquisa são apresentados a seguir. O lixiviado de aterro sanitário utilizado para a realização desses bioensaios foi aquele armazenado durante seis meses após a coleta.

4.3.1 DQO solúvel inerte

Para a determinação da concentração da DQO solúvel inerte, foram constituídos experimentos em que os lodos avaliados eram expostos ou ao lixiviado diluído de aterro sanitário ou à glicose. Foram testadas diferentes concentrações de lodo inoculado e de DQO afluente, de modo a avaliar a sua influência sobre a DQO solúvel inerte. Os frascos de reação foram mantidos em temperatura de 35 ± 2 °C durante 28 dias. Ao longo deste período, foram retiradas alíquotas de cada frasco e, a partir delas, foi determinada a concentração da DQO efluente para cada experimento em função do tempo de ensaio. Para cada experimento, os resultados para as alíquotas que apresentavam concentração da DQO efluente aproximadamente constante, indicativos que a máxima degradação da matéria orgânica já havia ocorrido, e que produziam coeficiente de variação inferior a 20%, foram utilizados para o cálculo da concentração da DQO efluente residual média e do desvio-padrão associado.

4.3.1.1 DQO solúvel inerte para os experimentos inoculados com o Lodo 1

Na TABELA 4.3 são apresentados os resultados da concentração da DQO efluente residual média dos experimentos realizados para a avaliação do Lodo 1, coletado de lagoa facultativa. São também apresentadas as condições experimentais associadas a cada resultado.

TABELA 4.3 – RESULTADOS PARA A CONCENTRAÇÃO DA DQO RESIDUAL – LODO 1

Experimento	Concentração de lodo inoculado (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})	N	DQO efluente residual média ± d. p. (mg O ₂ /L)
Substrato: lixiviado diluído de aterro sanitário					
L1	1,0	1,514	1,51	5	1.686 ± 77
L2	3,0	1,514	0,50	5	2.084 ± 107
L3	1,0	0,757	0,76	5	979 ± 72
L4	3,0	0,757	0,25	5	1.575 ± 125
L5 – PC	2,0	1,135	0,57	5	1.577 ± 119
L6 – PC				5	1.730 ± 93
L7 – PC				5	1.751 ± 162
Substrato: glicose, 6 g/L					
G1	1,0	1,514	1,51	2	329 ± 118
G2	3,0	1,514	0,50	3	1.054 ± 125
G3	1,0	0,757	0,76	2	180 ± 1
G4	3,0	0,757	0,25	4	392 ± 47
G5 – PC	2,0	1,135	0,57	3	376 ± 61
G6 – PC				5	368 ± 67
G7 – PC				3	316 ± 44

FONTE: a autora (2020)

NOTA: PC: experimento integrante do ponto central; d. p.: desvio-padrão; N: número de amostras, coletadas em dias consecutivos, utilizadas para o cálculo do valor médio e desvio-padrão. Cada amostra teve a concentração da DQO determinada a partir de uma replicata

O coeficiente de variação obtido para o experimento G1, 36%, excedeu o valor limite de 20%, considerado para a seleção das amostras utilizadas para o cálculo das concentrações médias da DQO efluente residual. Isso se deve à redução abrupta da concentração da DQO residual observada para o efluente do frasco de reação correspondente, fenômeno que ocorreu entre o 27° e o 33° dias de ensaio. Dessa forma, a concentração da DQO residual neste frasco, G1, não apresentou valores estáveis quando do encerramento do ensaio, resultando em elevados desvio-padrão e coeficiente de variação para este experimento.

A partir dos resultados apresentados na TABELA 4.3, foram calculadas a concentração da DQO solúvel inerte (ou DQO inerte de amostra filtrada) e a percentagem da DQO inerte do lixiviado em relação à DQO afluente para cada experimento associado ao Lodo 1. Os resultados são apresentados na TABELA 4.4.

TABELA 4.4 – RESULTADOS PARA A CONCENTRAÇÃO DA DQO SOLÚVEL INERTE DO LIXIVIADO – LODO 1

Experi- mento	Concentração de lodo inoculado (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Relação A/M (g DQO _{afluente} / g SVT _{lodo})	DQO afluente (mg O ₂ /L)	DQO solúvel inerte ± d. p. ⁽¹⁾ (mg O ₂ /L)	DQO solúvel inerte (% da DQO afluente)
1	1,0	1,514	1,51	1.711	1.357 ± 141	79,3
2	3,0	1,514	0,50	2.309	1.030 ± 165	44,6
3	1,0	0,757	0,76	859	799 ± 72	93,0
4	3,0	0,757	0,25	1.158	1.183 ± 134	102,2
5 – PC	2,0	1,135	0,57	1.476	1.201 ± 134	81,4
6 – PC					1.362 ± 115	92,3
7 – PC					1.435 ± 168	97,2

FONTE: a autora (2020)

NOTA: (1): o desvio-padrão (d. p.) foi calculado a partir da equação para estimativa da propagação de erros, apresentada em Vuolo (1992); PC: experimento integrante do ponto central

O resultado obtido para a percentagem da DQO inerte associada ao experimento 4 (102,2% da DQO afluente) indica que, neste caso, houve acúmulo de matéria orgânica no frasco de reação correspondente, sendo a concentração da DQO efluente residual maior do que a da DQO afluente adicionada ao frasco. O experimento 4 continha a maior concentração de lodo inoculado (3 g SVT_{lodo}/L_{reação}) e a menor concentração do lixiviado (0,757 g DQO/L_{reação}), o que indica que, neste caso, a baixa concentração de matéria orgânica do lixiviado foi um fator limitante para a manutenção da atividade metabólica da microbiota. Pode ter ocorrido o rompimento das células microbianas do lodo inoculado neste frasco, levando ao extravasamento de substâncias no meio reacional que podem ter contribuído para a maior concentração da DQO efluente residual.

Para os demais experimentos, por outro lado, os valores obtidos para a concentração da DQO solúvel inerte do lixiviado, quando tratado pelo Lodo 1, variaram entre 44% e 97% da DQO afluente adicionada aos sistemas. Estas percentagens sugerem que a maior parte da matéria orgânica do lixiviado de aterro sanitário foi recalcitrante ao tratamento anaeróbio pelo Lodo 1, para as condições experimentais avaliadas.

A partir dos dados apresentados na TABELA 4.4, foi calculada a influência da concentração do Lodo 1 inoculado e da DQO afluente sobre os resultados para a DQO solúvel inerte do lixiviado. A estimativa do desvio de um efeito, necessária para a avaliação da significância estatística da influência dos fatores mencionados, foi realizada a partir da média e do desvio-padrão da DQO solúvel inerte para a triplicata biológica composta pelos experimentos 5, 6 e 7, referentes ao ponto central (PC), do planejamento fatorial. Os resultados detalhados são apresentados no

Apêndice 2. No QUADRO 4.5 são apresentados, de maneira sintética, os resultados obtidos para a determinação da influência da concentração do Lodo 1 e da DQO afluyente sobre a DQO solúvel inerte do lixiviado.

QUADRO 4.5 – RESULTADOS PARA O CÁLCULO DOS EFEITOS SOBRE A DQO INERTE DO LIXIVIADO – LODO 1

Fator	Valor do efeito do fator sobre a DQO solúvel inerte (p. p.)	Efeito é significativo?
Concentração do Lodo 1	-12,8	não
DQO afluyente	-35,6	sim
Combinação da concentração de lodo e da DQO afluyente	-22,0	não

FONTE: a autora (2020)

NOTA: p. p.: pontos percentuais

Conforme apresentado no QUADRO 4.5, apenas a concentração da DQO afluyente teve impacto significativo sobre o resultado para a DQO solúvel inerte do lixiviado. A concentração do Lodo 1 inoculado, por si só, não teve influência estatisticamente significativa sobre o resultado da DQO solúvel inerte. O efeito combinado da concentração do Lodo 1 e da DQO afluyente também não foi significativo, para as condições experimentais avaliadas.

O resultado para o efeito da DQO afluyente indica que o aumento da concentração deste fator, para os níveis testados, esteve associado à diminuição da DQO solúvel inerte do lixiviado, ou seja, quando a concentração da DQO afluyente foi variada de 0,757 g DQO/L_{reação} para 1,514 g DQO/L_{reação}, a DQO solúvel inerte do lixiviado diminuiu em, aproximadamente, 35,6 pontos percentuais. Este resultado sugere que o aumento na concentração da matéria orgânica associada ao lixiviado resultou em maior biodegradação pela microbiota do Lodo 1 e, conseqüentemente, em menor concentração residual para a DQO após 28 dias. Dessa forma, para as condições testadas, o lixiviado diluído não exerceu efeito inibitório sobre a microbiota do Lodo 1. Por outro lado, a concentração da matéria orgânica do lixiviado foi um fator limitante para o processo anaeróbio, o que sugere que o lixiviado tinha concentração reduzida de matéria orgânica biodegradável.

Por fim, a comparação entre os resultados para a DQO inerte obtidos a partir dos experimentos 2, 5, 6 e 7, estes três últimos replicatas de uma mesma condição experimental, sugere que a relação A/M não apresentou efeito significativo sobre a DQO solúvel inerte do lixiviado tratado pelo Lodo 1. Apesar de concebidos para

apresentarem relação A/M similar (0,5 g DQO/g SVT_{lodo}, aproximadamente), os experimentos 2, 5, 6 e 7 resultaram em valores diferentes para a concentração da DQO solúvel inerte do lixiviado tratado pelo Lodo 1 (44,6%; 81,4%; 92,3% e 97,2% da concentração da DQO afluyente, respectivamente).

4.3.1.2 DQO solúvel inerte para os experimentos inoculados com o Lodo 2

Na TABELA 4.5 são apresentados os resultados para a DQO efluente residual média dos experimentos inoculados com o Lodo 2.

TABELA 4.5 – RESULTADOS PARA A CONCENTRAÇÃO DA DQO RESIDUAL – LODO 2

Experimento	Concentração de lodo inoculado (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})	N	DQO efluente residual média ± d. p. (mg O ₂ /L)
Substrato: lixiviado diluído de aterro sanitário					
L1	1,0	1,514	1,51	2	1.696 ± 57
L2	3,0	1,514	0,50	4	1.993 ± 410
L3	1,0	0,757	0,76	2	978 ± 18
L4	3,0	0,757	0,25	3	1.113 ± 85
L5 – PC	2,0	1,135	0,57	3	1.324 ± 222
L6 – PC				2	1.384 ± 55
L7 – PC				2	1.408 ± 158
Substrato: glicose, 6 g/L					
G1	1,0	1,528	1,53	5	1.007 ± 120
G2	3,0	1,528	0,51	6	1.319 ± 57
G3	1,0	0,764	0,76	5	453 ± 8
G4	3,0	0,764	0,25	6	709 ± 55
G5 – PC	2,0	1,146	0,57	5	743 ± 69
G6 – PC				5	701 ± 81
G7 – PC				6	919 ± 24

FONTE: a autora (2020)

NOTA: PC: experimento integrante do ponto central; d. p.: desvio-padrão; N: número de amostras, coletadas em dias consecutivos, utilizadas para o cálculo do valor médio e desvio-padrão. Cada amostra teve a concentração da DQO determinada a partir de uma replicata

A partir dos resultados apresentados na TABELA 4.5, foram calculadas, para cada experimento, a concentração da DQO solúvel inerte do lixiviado tratado pelo Lodo 2 e a sua percentagem em relação à da DQO afluyente. Os resultados são apresentados na TABELA 4.6.

TABELA 4.6 – RESULTADOS PARA A CONCENTRAÇÃO DA DQO SOLÚVEL INERTE DO LIXIVIADO – LODO 2

Experi- mento	Concentração de lodo inoculado (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Relação A/M (g DQO _{afluente} / g SVT _{lodo})	DQO afluente (mg O ₂ /L)	DQO solúvel inerte ± d. p. ⁽¹⁾ (mg O ₂ /L)	DQO solúvel inerte (% da DQO afluente)
1	1,0	1,514	1,51	1.588	689 ± 133	43,4
2	3,0	1,514	0,50	1.759	674 ± 414	38,3
3	1,0	0,757	0,76	794	525 ± 20	66,1
4	3,0	0,757	0,25	879	404 ± 101	46,0
5 – PC	2,0	1,135	0,57	1.251	581 ± 232	46,4
6 – PC					683 ± 98	54,6
7 – PC					489 ± 160	39,1

FONTE: a autora (2020)

NOTA: (1): o desvio-padrão (d. p.) foi calculado a partir da equação para estimativa da propagação de erros, apresentada em Vuolo (1992); PC: experimento integrante do ponto central

De maneira análoga à realizada para o Lodo 1, foi calculada a influência da concentração do Lodo 2 inoculado e da DQO afluente sobre os resultados para a concentração da DQO solúvel inerte do lixiviado, utilizando os dados apresentados na TABELA 4.6. Os resultados detalhados são apresentados no Apêndice 2. No QUADRO 4.6 são apresentados os resultados obtidos para a determinação da influência da concentração do Lodo 2 e da DQO afluente sobre a concentração da DQO solúvel inerte do lixiviado tratado pelo Lodo 2.

QUADRO 4.6 – RESULTADOS PARA O CÁLCULO DOS EFEITOS SOBRE A DQO INERTE DO LIXIVIADO – LODO 2

Fator	Valor do efeito do fator sobre a DQO solúvel inerte (p. p.)	Efeito é significativo?
Concentração do lodo	-12,6	não
DQO afluente	-15,2	não
Combinação da concentração de lodo e da DQO afluente	7,5	não

FONTE: a autora (2020)

NOTA: p. p.: pontos percentuais

Os efeitos da concentração do Lodo 2 inoculado e da DQO afluente não podem ser considerados significativos, isto é, estes fatores não exerceram influência significativa sobre os resultados para a DQO solúvel inerte do lixiviado tratado pelo Lodo 2. Ainda assim, vale ressaltar as tendências associadas aos resultados apresentados no QUADRO 4.6. Tanto a concentração do Lodo 2 inoculado como a da DQO afluente, quando aumentadas, no intervalo avaliado, mostraram correlação com a redução da DQO solúvel inerte do lixiviado, comportamento semelhante àquele observado para os experimentos realizados com o Lodo 1.

Para os experimentos realizados mediante a inoculação do Lodo 2 e para a relação A/M de cerca de 0,5 g DQO/g SVT_{lodo}, foram obtidos os seguintes resultados para a DQO solúvel inerte do lixiviado: 38,3% da DQO afluente para o experimento 2; 46,4% para o experimento 5; 54,6% para o experimento 6; 39,1% para o experimento 7. Diferentemente do observado para o Lodo 1, os resultados obtidos para condições experimentais distintas, mas que resultaram na mesma relação A/M, são similares entre si, para os sistemas inoculados com o Lodo 2. Isso sugere, por vez, que a relação A/M também pode influenciar os resultados do bioensaio para a determinação da DQO solúvel inerte, mas que este fator pode estar associado à origem do lodo utilizado.

4.3.1.3 Comparação entre os resultados para a DQO inerte para os Lodos 1 e 2

Os resultados obtidos para o ponto central (PC – experimentos 5, 6 e 7) de cada planejamento fatorial foram utilizados para o cálculo de um valor médio da concentração da DQO solúvel inerte do lixiviado, para os sistemas associados a cada lodo. Os resultados são apresentados na TABELA 4.7.

TABELA 4.7 – RESULTADOS PARA A DQO SOLÚVEL INERTE DO LIXIVIADO PARA OS PONTOS CENTRAIS

Lodo inoculado	Concentração de lodo inoculado (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})	DQO solúvel inerte ± d. p. (mg O ₂ /L)	DQO solúvel inerte ± d. p. (% da DQO afluente)
1 – lagoa facultativa	2,0	1,135	0,57	1.333 ± 120	90,3 ± 8,1
2 – reator UASB				584 ± 97	46,7 ± 7,8

FONTE: a autora (2020)

NOTA: d. p.: desvio-padrão

As médias para a concentração da DQO solúvel inerte do lixiviado obtidas para as mesmas condições experimentais, porém associadas aos Lodos 1 e 2, 90,3% e 46,7% da concentração da DQO afluente, respectivamente, são significativamente diferentes entre si. Para esta avaliação, foi realizado o teste *t*, em nível de confiança de 95%. A diferença significativa entre os resultados para os pontos centrais referentes aos Lodos 1 e 2 sugere, portanto, que a origem do lodo também teve influência sobre a concentração da DQO solúvel inerte do lixiviado.

O valor da DQO solúvel inerte do lixiviado obtido a partir da triplicata que compunha o PC dos experimentos associados ao Lodo 1 é, aproximadamente, o dobro do obtido para o Lodo 2 (90,3% da DQO afluente para o Lodo 1; 46,7% para o Lodo 2). Esta diferença entre os resultados obtidos para a concentração da DQO solúvel inerte do lixiviado, quando tratado por dois lodos distintos, pode ser atribuída especialmente à concentração da DQO efluente dos frascos que receberam glicose e que foram utilizados para o cálculo da DQO solúvel inerte.

A concentração da DQO efluente residual para os frascos inoculados com o Lodo 2 e cujo substrato era a glicose foi significativamente maior do que para o Lodo 1 (353 mg O₂/L, para o Lodo 1, e 788 mg O₂/L, para o Lodo 2, sendo estes os valores médios calculados a partir dos pontos centrais). Logo, ao descontar estes valores, obtidos para a glicose, da concentração da DQO residual dos frascos contendo lixiviado (1.686 mg O₂/L, para o Lodo 1, e 1.372 mg O₂/L, para o Lodo 2, médias para os pontos centrais), a concentração da DQO solúvel inerte resultante foi menor para o Lodo 2 em comparação ao Lodo 1 (1.333 mg O₂/L, para o Lodo 1, e 584 mg O₂/L, para o Lodo 2, médias para os pontos centrais). No entanto, embora a concentração da DQO solúvel inerte do lixiviado seja menor para o Lodo 2 em comparação ao Lodo 1, os dois lodos apresentaram resultados similares para a eficiência de biodegradação do lixiviado, como apresentado na Seção 4.3.2.3. Dessa forma, cabe ressaltar que o bioensaio para a determinação da DQO solúvel inerte tem limitações e que os resultados associados devem ser interpretados com cautela.

Uma das limitações do método utilizado para a determinação da DQO solúvel inerte é a comparação entre o desempenho da microbiota dos lodos quanto à degradação de substratos diferentes, por exemplo, lixiviado e glicose, como no caso desta pesquisa. Estudos de sistemas anaeróbios têm mostrado que o tipo de substrato tem impacto na dinâmica populacional microbiana, selecionando micro-organismos especializados, independentemente da composição populacional do inóculo (LEE et al., 2009; DE FRANCISCI et al., 2015; HAO et al., 2016).

Logo, apesar do lodo inoculado ser o mesmo para os experimentos realizados com lixiviado e com glicose, estes substratos podem ter estimulado o crescimento de populações microbianas com capacidades metabólicas distintas. Ao descontar a concentração da DQO residual associada à glicose daquela relativa ao lixiviado tratado por um mesmo lodo anaeróbio, de forma a determinar a concentração da DQO solúvel inerte, é possível que tenham sido comparadas

populações microbianas diferentes. Isso, por sua vez, poderia levar a resultados inexatos para a avaliação da concentração da DQO inerte do lixiviado.

Os resultados obtidos nesta pesquisa podem ser comparados também aos de outros trabalhos. Os seguintes resultados foram apresentados para a concentração da DQO solúvel inerte de lixiviado de aterro sanitário: 42% em relação à concentração da DQO afluente (AMARAL et al., 2009); 30,3% a 35,9%, para lixiviado de três coletas diferentes (RIETOW, 2018); 13,7% a 46,6%, para lixiviado coletado em cinco momentos distintos (BAETTKER, 2019). Estes dois últimos autores avaliaram lixiviado coletado da mesma fonte que o utilizado nesta pesquisa. Além disso, o lodo utilizado por eles era proveniente da mesma origem do Lodo 2, reator UASB. De fato, os resultados obtidos por esses autores são similares aos determinados neste estudo, considerando apenas os experimentos realizados com a inoculação do Lodo 2: 46,7% da concentração da DQO afluente do lixiviado avaliado neste trabalho pode ser atribuída à matéria orgânica inerte, sendo este o valor médio obtido a partir dos resultados para o PC. Entretanto, os outros trabalhos citados não avaliaram a influência das condições experimentais sobre a DQO solúvel inerte do lixiviado, o que pode ser outra limitação à interpretação dos resultados.

A concentração da DQO solúvel inerte tem sido utilizada como parâmetro para a caracterização de águas residuárias. Contudo, conforme sugerem os resultados deste estudo, obtidos a partir da interpretação dos planejamentos fatoriais, as condições experimentais podem influenciar os resultados associados ao bioensaio. Nesta pesquisa, por exemplo, a origem do lodo teve influência sobre a DQO solúvel inerte do lixiviado. Além dela, para o Lodo 1, a concentração da DQO afluente também exerceu efeito significativo sobre os resultados. Assim, em função destas observações, recomenda-se que os resultados para a DQO solúvel inerte sejam atrelados não apenas à água residuária sob avaliação, mas sim ao sistema e às condições experimentais utilizadas para a realização do bioensaio.

Outro resultado importante obtido a partir do bioensaio para a determinação da DQO inerte foi o efeito do substrato sobre as características dos lodos inoculados. Para os frascos de reação em que o substrato era lixiviado de aterro sanitário, foi observada a parca sedimentabilidade de ambos os lodos avaliados. Por outro lado, para os frascos que continham, além dos lodos, glicose como substrato, foi observada a sedimentação dos lodos depois do terceiro dia de ensaio.

4.3.1.4 Influência da glicose sobre a sedimentação dos Lodos 1 e 2

Na FIGURA 4.5 são apresentadas fotografias dos frascos de reação inoculados com o Lodo 1, proveniente de lagoa facultativa, no 28º dia do ensaio. É possível observar que os frascos contendo lixiviado (FIGURA 4.5a) apresentaram conteúdo de cor mais escura e turbidez. Embora parte da cor destes frascos possa ser atribuída ao lixiviado, a turbidez e a coloração foram também devidas ao lodo inoculado, que permaneceu, em grande medida, em suspensão. A partir da FIGURA 4.5b, porém, é possível observar que houve sedimentação do lodo nos frascos aos quais a glicose foi adicionada como substrato. A sedimentação dos lodos nestes frascos que continham glicose foi observada a partir do terceiro dia de ensaio.

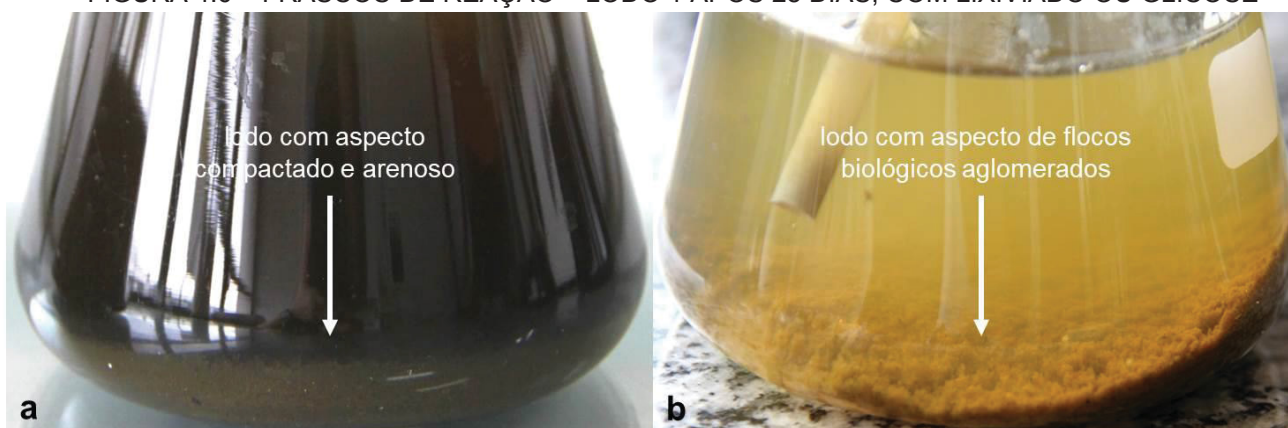


FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: L: frascos contendo lixiviado diluído como substrato; G: frascos contendo solução de glicose como substrato. As setas apontam para a camada de lodo acumulada no fundo dos frascos

Para os frascos com o Lodo 1 e lixiviado diluído como substrato, apesar de ter ocorrido certa sedimentação, as características do material apresentaram-se bastante diferentes daquelas dos frascos inoculados com o mesmo lodo, porém tendo a glicose como substrato. Na FIGURA 4.6 são apresentadas fotografias comparativas das duas condições. Para os frascos contendo Lodo 1 e lixiviado diluído, o material sedimentado era compactado e similar à areia (FIGURA 4.6a). Por outro lado, para o lodo sedimentado nos frascos em que a glicose foi utilizada como substrato, a característica era de agregados de flocos biológicos (FIGURA 4.6b).

FIGURA 4.6 – FRASCOS DE REAÇÃO – LODO 1 APÓS 28 DIAS, COM LIXIVIADO OU GLICOSE



FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: a: lixiviado diluído como substrato; b: glicose como substrato

O mesmo comportamento descrito previamente foi observado para o Lodo 2, coletado de reator UASB. Para os frascos em que lixiviado diluído foi utilizado como substrato, não houve significativa sedimentação do Lodo 2 durante o período do ensaio (28 dias), tendo este permanecido em suspensão nos frascos de reação. Por outro lado, para aqueles frascos em que havia, além do Lodo 2, glicose como substrato, a sedimentação iniciou a partir do terceiro dia do ensaio. Ao final de 28 dias, uma camada de lodo foi observada no fundo de todos os frascos de reação alimentados com glicose. Na FIGURA 4.7 são apresentadas fotografias dos frascos de reação inoculados com o Lodo 2 após 28 dias de ensaio.

FIGURA 4.7 – FRASCOS DE REAÇÃO – LODO 2 APÓS 28 DIAS



FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: L: frascos contendo lixiviado diluído como substrato; G: frascos contendo solução de glicose como substrato. As setas apontam para a camada de lodo acumulada no fundo dos frascos

A agregação de células microbianas e de sólidos suspensos, com formação de flocos biológicos ou de grânulos que apresentam massa e densidade suficientes para sedimentar, depende da síntese e secreção de substâncias poliméricas extracelulares pelos micro-organismos associados aos lodos. De acordo com a revisão realizada por Nouha e colaboradores (2018), são necessárias três etapas para que ocorra a síntese destas substâncias e a formação de flocos biológicos sedimentáveis: 1) assimilação, pelos micro-organismos envolvidos, de um substrato que seja fonte de carbono; 2) síntese intracelular de polissacarídeos; 3) excreção das substâncias poliméricas para fora das células. As substâncias poliméricas extracelulares, por vez, permitem a adesão e coesão da biomassa.

Como a glicose, utilizada como substrato nos bioensaios realizados nesta pesquisa, é uma fonte facilmente assimilável de carbono, provavelmente induziu o processo citado acima, levando à produção e secreção de substâncias poliméricas, que levaram, por vez, à agregação da biomassa microbiana contida em ambos os lodos avaliados. No entanto, para os frascos em que o lixiviado diluído foi utilizado como substrato, a formação de flocos biológicos com boa sedimentabilidade não foi observada, para nenhum dos dois lodos avaliados. Isso pode ser atribuído à deficiência do lixiviado utilizado como fonte de carbono assimilável e facilmente biodegradável, como já sugeriam os resultados obtidos para a caracterização desta água residuária (Seção 4.1). Provavelmente, por não haver carbono assimilável em concentração suficiente no lixiviado utilizado, o processo de síntese e excreção das substâncias poliméricas extracelulares que levariam à agregação e sedimentação da biomassa dos lodos foi prejudicado.

A secreção de substâncias poliméricas extracelulares auxilia no estabelecimento e na manutenção de micro-organismos em biofilmes, tornando-os, por exemplo, menos suscetíveis a estresses ambientais. Há, inclusive, sistemas anaeróbios de tratamento de águas residuárias que dependem fortemente da capacidade de agregação da biomassa e seu arranjo em flocos ou grânulos biológicos com boa sedimentabilidade, como os reatores UASB (LETTINGA et al., 1980; MACLEOD; GUIOT; COSTERTON, 1990). A maior síntese de substâncias poliméricas extracelulares e a consequente agregação microbiana em grânulos anaeróbios foi, inclusive, associada a maiores eficiências de remoção da matéria orgânica por sistemas anaeróbios operados em bateladas sequenciais (ROCHA; BRAGA; BRAGA, 2017).

Assim, em função dos resultados obtidos para os bioensaios realizados com lixiviado como substrato, que apontaram para a limitada capacidade de formação de flocos biológicos pelos lodos avaliados quando expostos a esta água residuária, a glicose foi selecionada como fonte de carbono suplementar e passou a ser utilizada durante a operação dos reatores de bancada. Esta medida foi adotada para favorecer a agregação da biomassa dos lodos anaeróbios inoculados nos reatores, facilitando a aclimação da microbiota ao lixiviado.

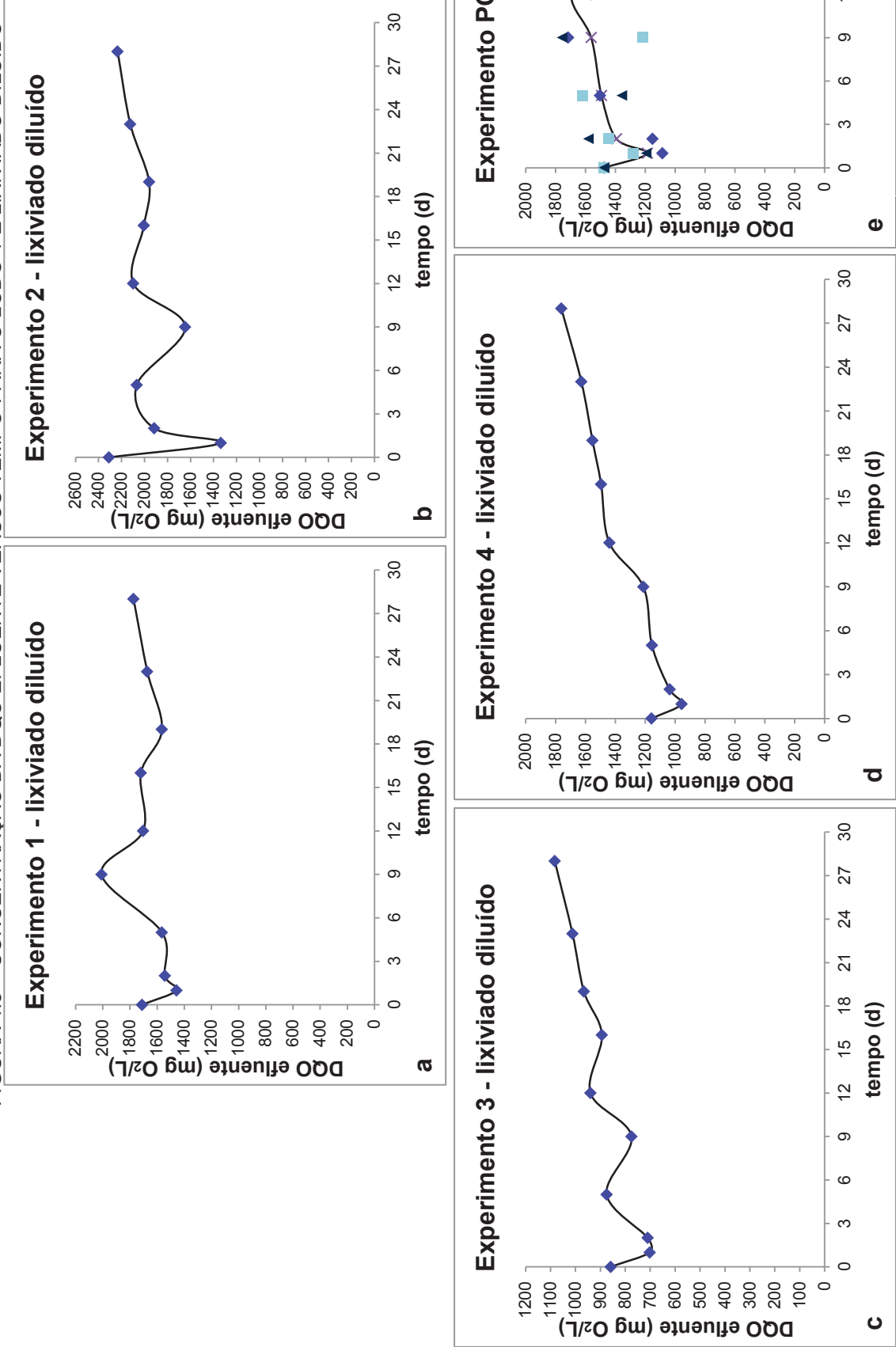
4.3.2 Biodegradabilidade anaeróbia

O bioensaio para a determinação da biodegradabilidade anaeróbia do lixiviado de aterro sanitário foi realizado mediante monitoramento da concentração da DQO efluente dos sistemas anaeróbios em função do tempo. Foi realizado, para cada lodo utilizado como inóculo, um conjunto de experimentos, constituintes de planejamentos fatoriais, para avaliar a influência da concentração do lodo e da DQO afluente sobre a biodegradabilidade anaeróbia do lixiviado. Os frascos de reação foram mantidos à temperatura controlada de 35 ± 2 °C durante 28 dias. Os resultados são apresentados a seguir.

4.3.2.1 Biodegradabilidade anaeróbia para os experimentos associados ao Lodo 1

Os gráficos que relacionam a concentração da DQO efluente ao tempo de ensaio, para os experimentos inoculados com o Lodo 1, são apresentados na FIGURA 4.8. A FIGURA 4.8e foi elaborada a partir dos resultados obtidos para a triplicata biológica, constituinte do ponto central do planejamento fatorial. Os valores médios da concentração da DQO efluente em função do tempo de ensaio, calculados a partir dos resultados para os experimentos que compunham o ponto central, foram utilizados para a geração da linha de tendência apresentada na FIGURA 4.8e.

FIGURA 4.8 – CONCENTRAÇÃO DA DQO EFLUENTE VERSUS TEMPO PARA O LODO 1 E LIXIVIADO DILUÍDO



FONTE: a autora (2020)

O perfil da concentração da DQO efluente em função do tempo apresentou similaridades para todos os experimentos em que foi utilizado o Lodo 1, tendo o lixiviado diluído como substrato. Como pode ser observado nas FIGURAS 4.8a a 4.8e, houve o decréscimo da concentração da DQO efluente para o primeiro dia de ensaio, para todos os experimentos. A redução da concentração da DQO efluente nas primeiras 24 horas pode ser atribuída ao estabelecimento da condição anaeróbia no interior dos frascos de reação. Como o Lodo 1 era proveniente de lagoa facultativa, é possível que nele estivessem ainda presentes micro-organismos facultativos, que podem ter iniciado a rápida degradação da matéria orgânica do lixiviado até que o oxigênio dissolvido remanescente fosse consumido.

Como pode ser observado a partir dos resultados apresentados na FIGURA 4.8, a concentração da DQO efluente oscilou ao longo do tempo do ensaio, isto é, foram observados períodos de aumento da concentração, sucedidos por períodos de diminuição. Este perfil oscilante para a concentração da DQO efluente pode ser associado à baixa biodegradabilidade do lixiviado. Como provavelmente o lixiviado não fornecia matéria orgânica suficiente para a manutenção da atividade metabólica da microbiota, pode ter ocorrido o acúmulo de substâncias liberadas para o meio reacional após a morte e rompimento das células microbianas. Ao se acumularem no meio reacional, explicariam o aumento da DQO observado para certos dias. Ao mesmo tempo, esses produtos microbianos representariam fonte de matéria orgânica para a microbiota remanescente e, ao serem consumidos, justificariam a diminuição da concentração da DQO efluente em outros momentos.

Um perfil oscilante para a degradação da matéria orgânica, ora com picos para a concentração da DQO efluente, ora com o seu decréscimo, similar ao observado neste estudo, foi relatado por Kennedy e Lentz (2000) e por Contrera e colaboradores (2015). De acordo com estes autores, quando o lixiviado apresentou características de recalcitrância (CONTRERA et al., 2015), ou quando as condições operacionais associadas ao tratamento do lixiviado foram desfavoráveis à microbiota anaeróbia (KENNEDY; LENTZ, 2000), foi observada a instabilidade da degradação da matéria orgânica e da produção de biogás pelos sistemas associados.

Outro resultado obtido a partir do bioensaio para a determinação da biodegradabilidade anaeróbia foi a eficiência média de remoção da DQO do lixiviado pelos lodos inoculados. Dessa forma, utilizando os resultados para a DQO efluente

média para cada experimento, a eficiência de redução da concentração da DQO foi calculada. Os resultados associados ao Lodo 1 são apresentados na TABELA 4.8.

TABELA 4.8 – RESULTADOS PARA A EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DA DQO PARA O LODO 1

Experi-Mento	Concentração de lodo inoculado (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})	DQO afluente (mg O ₂ /L)	N	DQO efluente residual média ± d. p. (mg O ₂ /L)	Eficiência média de remoção da DQO (%)
L1	1,0	1,514	1,51	1.711	5	1.686 ± 77	1,5
L2	3,0	1,514	0,50	2.309	5	2.084 ± 107	9,7
L3	1,0	0,757	0,76	859	5	979 ± 72	-14,0
L4	3,0	0,757	0,25	1.158	5	1.575 ± 125	-36,0
L5 – PC	2,0	1,135	0,57	1.476	5	1.577 ± 119	-6,9
L6 – PC					5	1.730 ± 93	-17,2
L7 – PC					5	1.751 ± 162	-18,6

FONTE: a autora (2020)

NOTA: d. p.: desvio-padrão; N: número de amostras, coletadas em dias consecutivos, utilizadas para o cálculo do valor médio. Cada amostra teve a concentração da DQO determinada a partir de uma replicata

Como pode ser observado a partir dos resultados apresentados na TABELA 4.8, a eficiência de redução da concentração da DQO variou entre -36,0% e 9,7%, para o Lodo 1. Os valores negativos observados para alguns experimentos (L3, L4, L5, L6 e L7) indicam que, nestes casos, houve acúmulo de matéria orgânica no frasco de reação correspondente, ou seja, ocorreu o aumento da DQO efluente em relação à afluente ao longo da realização do ensaio. Isso pode ser atribuído ao provável processo de rompimento das células microbianas do lodo inoculado nestes frascos, liberando, no meio reacional, substâncias e metabólitos microbianos que contribuiriam para as maiores concentrações da DQO efluente.

Como os resultados negativos obtidos para a eficiência de remoção da DQO pelo Lodo 1 poderiam limitar a aplicação e interpretação dos planejamentos fatoriais, foram calculadas, a partir dos dados apresentados na TABELA 4.8, as percentagens da concentração da DQO efluente em relação à da DQO afluente para cada experimento. Os resultados são apresentados na TABELA 4.9.

TABELA 4.9 – RESULTADOS PARA A PERCENTAGEM DA DQO EFLUENTE EM RELAÇÃO À DQO AFLUENTE PARA O LODO 1

Experimento	Concentração de lodo inoculado (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})	DQO efluente/DQO afluente (%)
L1	1,0	1,514	1,51	98,5
L2	3,0	1,514	0,50	90,3
L3	1,0	0,757	0,76	114,0
L4	3,0	0,757	0,25	136,0
L5 – PC	2,0	1,135	0,57	106,9
L6 – PC				117,2
L7 – PC				118,6

FONTE: a autora (2020)

Como pode ser observado a partir dos resultados apresentados na TABELA 4.9, apenas os experimentos L1 e L2 apresentaram valores menores que 100% para a percentagem da concentração da DQO efluente em relação à da DQO afluente. Como citado previamente, estes foram os únicos frascos inoculados com o Lodo 1 que apresentaram redução da concentração da matéria orgânica em função do tempo do ensaio. Para os experimentos L3, L4, L5, L6 e L7, ocorreu o acúmulo de matéria orgânica ao longo do tempo nos frascos de reação, sendo a concentração da DQO efluente maior que a da DQO afluente e resultando em valores superiores a 100% para a percentagem associada à relação entre estes dois parâmetros.

A partir dos dados apresentados na TABELA 4.9, foi calculada a influência da concentração do Lodo 1 inoculado e da DQO afluente sobre os resultados da percentagem da concentração da DQO efluente em relação à da DQO afluente. Os resultados são apresentados, resumidamente, no QUADRO 4.7. Os resultados detalhados são apresentados no Apêndice 2.

QUADRO 4.7 – RESULTADOS PARA O CÁLCULO DOS EFEITOS SOBRE A PERCENTAGEM DA DQO EFLUENTE EM RELAÇÃO À DQO AFLUENTE – LODO 1

Fator	Valor do efeito do fator sobre a percentagem da DQO efluente em relação à DQO afluente (p. p.)	Efeito é significativo?
Concentração do lodo	6,9	não
DQO afluente	-30,6	sim
Combinação da concentração de lodo e da DQO afluente	-15,1	não

FONTE: a autora (2020)

NOTA: p. p.: pontos percentuais

Como pode ser observado a partir das informações apresentadas no QUADRO 4.7, entre os fatores avaliados, apenas a concentração da DQO afluente teve influência significativa sobre a percentagem da concentração da DQO efluente em relação à da DQO afluente para os sistemas anaeróbios inoculados com o Lodo 1, com utilização do lixiviado diluído.

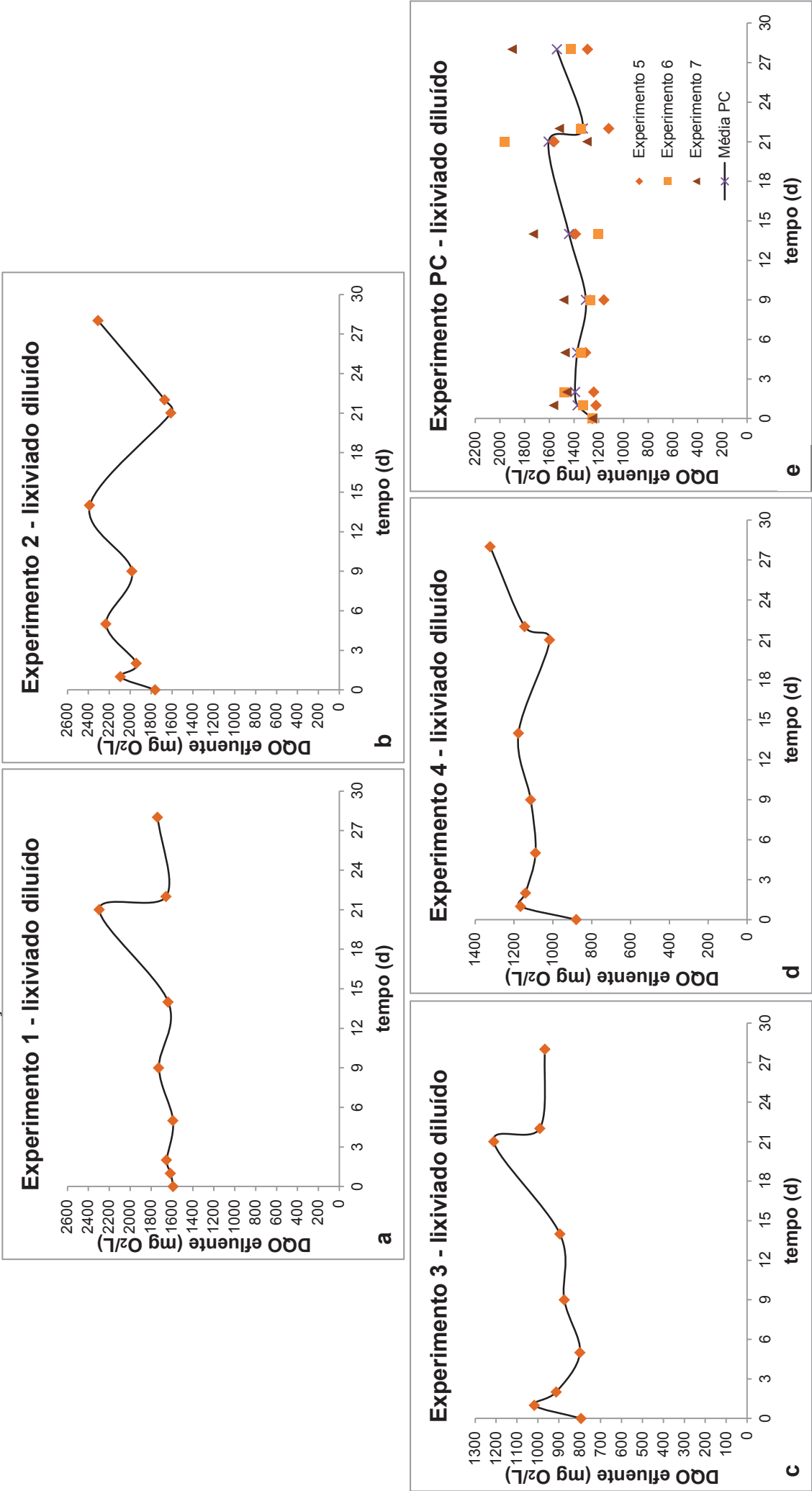
O resultado obtido para o planejamento fatorial indica que, se a concentração da DQO afluente associada ao lixiviado fosse aumentada de 0,757 g DQO/L_{reação} para 1,514 g DQO/L_{reação}, a percentagem da concentração da DQO efluente em relação à da DQO afluente diminuiria, em média, em 30,6 pontos percentuais. Este resultado sugere que quanto menor a diluição do lixiviado, maior seria a eficiência de remoção da DQO pelo Lodo 1 e, conseqüentemente, menor a percentagem da concentração da DQO efluente em relação à da DQO afluente, para os níveis avaliados. Isso indica, por vez, que havia a provável deficiência de matéria orgânica biodegradável no lixiviado, visto que, para os experimentos em que a concentração da DQO afluente foi maior, ou seja, em que o lixiviado forneceu maior concentração de matéria orgânica para a manutenção da atividade metabólica microbiana, foram obtidos melhores resultados para a eficiência de biodegradação.

Parece não ter havido influência da relação A/M sobre o processo de biodegradação do lixiviado diluído pelo Lodo 1. Conforme pode ser observado a partir dos dados apresentados na TABELA 4.8, foram realizados experimentos em que a relação A/M foi similar, com valor aproximado de 0,5 g DQO/g SVT_{lodo} (experimentos L2, L5, L6 e L7, estes três últimos replicatas das mesmas condições experimentais). No entanto, mesmo com relação A/M semelhante, a eficiência de redução da concentração da DQO associada ao lixiviado diluído se mostrou bastante diferente, com valores de 9,7% (L2); -6,9% (L5); -17,2% (L6); -18,6% (L7).

4.3.2.2 Biodegradabilidade anaeróbia para os experimentos associados ao Lodo 2

Os gráficos que relacionam a concentração da DQO efluente ao tempo de ensaio, para os experimentos inoculados com o Lodo 2, coletado de reator UASB, são apresentados na FIGURA 4.9. Para a FIGURA 4.9e, os dados foram processados a partir dos resultados obtidos para a triplicata biológica constituinte do ponto central do planejamento fatorial.

FIGURA 4.9 – CONCENTRAÇÃO DA DQO EFLUENTE VERSUS TEMPO PARA O LODO 2 E LIXIVIADO DILUÍDO



FONTE: a autora (2020)

Como pode ser observado a partir das informações apresentadas na FIGURA 4.9, para todos os experimentos realizados com o Lodo 2 e lixiviado diluído, houve aumento da concentração da DQO efluente após as primeiras 24 horas de ensaio. O comportamento dos sistemas anaeróbios, neste caso, diferiu do observado para aqueles inoculados com o Lodo 1. Para o Lodo 2, não foi observada a diminuição brusca da concentração da DQO após o primeiro dia de ensaio, conforme observado para o Lodo 1. Como o Lodo 2 foi coletado de reator UASB, é possível que não tenha ocorrido uma rápida fase inicial aeróbia, com o consumo abrupto da matéria orgânica até que o oxigênio dissolvido fosse exaurido, conforme sugerido para o Lodo 1.

Após as primeiras 24 horas, o perfil da concentração da DQO efluente oscilou ao longo do tempo do ensaio, assim como observado para os experimentos relacionados ao Lodo 1. O ciclo de aumento e redução da concentração da DQO efluente, observado para todos os experimentos inoculados com o Lodo 2 (FIGURAS 4.9a a 4.9e), pode ser atribuído à carência de matéria orgânica biodegradável do lixiviado, como discutido previamente para o Lodo 1.

A partir dos resultados para a concentração da DQO efluente, foi calculada a eficiência média de redução da concentração da DQO para cada experimento realizado com o Lodo 2. Os resultados são apresentados na TABELA 4.10.

TABELA 4.10 – RESULTADOS PARA A EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DA DQO PARA O LODO 2

Experi-Mento	Concentração de lodo inoculado (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})	DQO afluente (mg O ₂ /L)	N	DQO efluente residual média ± d. p. (mg O ₂ /L)	Eficiência média de remoção da DQO (%)
L1	1,0	1,514	1,51	1.588	2	1.696 ± 57	-6,8
L2	3,0	1,514	0,50	1.759	4	1.993 ± 410	-13,3
L3	1,0	0,757	0,76	794	2	978 ± 18	-23,2
L4	3,0	0,757	0,25	879	3	1.113 ± 85	-26,6
L5 – PC	2,0	1,135	0,57	1.251	3	1.324 ± 222	-5,9
L6 – PC					2	1.384 ± 55	-10,6
L7 – PC					2	1.408 ± 158	-12,5

FONTE: a autora (2020)

NOTA: d. p.: desvio-padrão; N: número de amostras, coletadas em dias consecutivos, utilizadas para o cálculo do valor médio. Cada amostra teve a concentração da DQO determinada a partir de uma replicata

Conforme resultados apresentados na TABELA 4.10, a eficiência de redução da concentração da DQO do lixiviado, para os sistemas associados ao Lodo 2, variou entre -26,6% e -5,9%. Não foram obtidos valores positivos para estes experimentos, sugerindo que não houve biodegradação do lixiviado, para as

condições experimentais avaliadas. Nestes casos, houve acúmulo de matéria orgânica nos frascos de reação correspondentes, ou seja, ocorreu o aumento da DQO efluente em relação à afluente ao longo da realização do ensaio.

Visando à adequada interpretação dos resultados dos planejamentos fatoriais, que poderia ser limitada pela utilização dos valores negativos para a eficiência de remoção da DQO pelo Lodo 2, foram calculadas, a partir dos dados apresentados na TABELA 4.10, as percentagens da concentração da DQO efluente em relação à da DQO afluente para cada experimento. Os resultados são apresentados na TABELA 4.11.

TABELA 4.11 – RESULTADOS PARA A PERCENTAGEM DA DQO EFLUENTE EM RELAÇÃO À DQO AFLUENTE PARA O LODO 2

Experimento	Concentração de lodo inoculado (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})	DQO efluente/DQO afluente (%)
L1	1,0	1,514	1,51	106,8
L2	3,0	1,514	0,50	113,3
L3	1,0	0,757	0,76	123,2
L4	3,0	0,757	0,25	126,6
L5 – PC	2,0	1,135	0,57	105,9
L6 – PC				110,6
L7 – PC				112,5

FONTE: a autora (2020)

Como pode ser observado a partir dos dados apresentados na TABELA 4.11, todos os experimentos associados ao Lodo 2 resultaram em percentagens da concentração da DQO efluente em relação à da DQO afluente superiores a 100%, indicando que houve o acúmulo de matéria orgânica em todos os frascos de reação em função do tempo de ensaio.

A partir dos dados apresentados na TABELA 4.11, foi calculada a influência da concentração do Lodo 2 inoculado e da DQO afluente sobre os resultados da percentagem da concentração da DQO efluente em relação à da DQO afluente. Os resultados são apresentados, resumidamente, no QUADRO 4.8. Os resultados detalhados são apresentados no Apêndice 2.

QUADRO 4.8 – RESULTADOS PARA O CÁLCULO DOS EFEITOS SOBRE A PERCENTAGEM DA DQO EFLUENTE EM RELAÇÃO À DQO AFLUENTE – LODO 2

Fator	Valor do efeito do fator sobre a percentagem da DQO efluente em relação à DQO afluyente (p. p.)	Efeito é significativo?
Concentração do lodo	5,0	não
DQO afluyente	-14,9	sim
Combinação da concentração de lodo e da DQO afluyente	1,6	não

FONTE: a autora (2020)

NOTA: p. p.: pontos percentuais

A partir da análise dos resultados apresentados no QUADRO 4.8, é possível deduzir que, entre as condições experimentais avaliadas, apenas a concentração da DQO afluyente teve efeito significativo sobre a percentagem da concentração da DQO efluente em relação à da DQO afluyente e, por conseguinte, sobre a eficiência da biodegradação do lixiviado pelo Lodo 2. Este resultado, similar ao determinado para o Lodo 1, indica que, ao aumentar a concentração da DQO afluyente relacionada ao lixiviado, de 0,757 g DQO/L_{reação} para 1,514 g DQO/L_{reação}, a percentagem da concentração da DQO efluente em relação à da DQO afluyente seria reduzida em 14,9 pontos percentuais, em média. À medida que a percentagem da concentração da DQO efluente em relação à da DQO efluente diminui, a eficiência de biodegradação do lixiviado aumenta. Logo, os resultados indicam que o aumento da concentração do lixiviado esteve associado ao aumento da eficiência de remoção da DQO pelo Lodo 2, para as condições experimentais avaliadas.

Este resultado, assim como para o Lodo 1, sugere que a menor diluição do lixiviado, representada pela maior concentração da DQO afluyente, favoreceria o processo de biodegradação anaeróbia, provavelmente porque mais matéria orgânica seria disponibilizada para a manutenção da atividade metabólica microbiana. A morte e o rompimento das células microbianas do Lodo 2 também podem ter ocorrido ao longo do bioensaio, levando ao aumento da concentração de produtos e metabólitos que contribuíram para a maior DQO efluente, resultando na diminuição da eficiência de biodegradação.

Para experimentos distintos realizados com o Lodo 2, porém com A/M próxima a 0,5 g DQO/g SVT, as eficiências de remoção da DQO associada ao lixiviado foram: -13,3% (L2); -5,8% (L5); -10,6% (L6); -12,5% (L7). Estes resultados indicam que, para o Lodo 2, proveniente de reator UASB, os valores de eficiência obtidos para condições experimentais distintas, mas para A/M similar, são mais

uniformes do que os observados para o Lodo 1. Isso permite sugerir que a relação A/M pode ser uma condição experimental que também afeta os resultados do bioensaio para a determinação da biodegradabilidade anaeróbia, mas que pode estar relacionada à origem do lodo utilizado. Amaral e colaboradores (2008), por exemplo, observaram que, de fato, havia a influência da relação A/M sobre os resultados para a eficiência de biodegradação do lixiviado por lodos anaeróbios.

Além da concentração do lodo e da DQO afluente, a origem dos lodos foi também avaliada quanto à sua influência sobre os resultados para a biodegradabilidade anaeróbia do lixiviado, como discutido a seguir.

4.3.2.3 Comparação entre os resultados para a biodegradabilidade anaeróbia para os Lodos 1 e 2

Os resultados obtidos para os pontos centrais (PC – experimentos 5, 6 e 7) foram utilizados para o cálculo de um valor médio de eficiência de redução da concentração da DQO para os sistemas associados a cada lodo. Os resultados são apresentados na TABELA 4.12.

TABELA 4.12 – RESULTADOS PARA A BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA PARA OS PONTOS CENTRAIS – LIXIVIADO DILUÍDO

Lodo inoculado	Concentração de lodo inoculado (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g DQO/L _{reação})	Relação A/M (g DQO _{afluente} /g SVT _{lodo})	Eficiência média de remoção da DQO ± d. p. (%)
1 – lagoa facultativa	2,0	1,135	0,57	-14,2 ± 6,4
2 – reator UASB				-9,7 ± 3,4

FONTE: a autora (2020)

NOTA: d. p.: desvio-padrão

As eficiências médias de remoção da DQO pelos sistemas inoculados com os Lodos 1 e 2, apresentadas na TABELA 4.12, foram comparadas por meio do teste *t*. Em nível de confiança de 95%, não há diferença significativa entre as médias obtidas para os Lodos 1 e 2, ou seja, não houve diferença entre a eficiência de biodegradação do lixiviado quando submetido a cada um dos dois lodos avaliados.

Além do mais, valores negativos foram obtidos para as eficiências médias de redução da concentração da DQO associadas aos dois lodos (-14,2%, para o Lodo

1, e -9,7%, para o Lodo 2). Este resultado sugere que não houve biodegradação do lixiviado pelos sistemas anaeróbios avaliados, para o período de 28 dias. Como discutido, o lixiviado utilizado provavelmente apresentava baixa concentração de matéria orgânica biodegradável, não sendo suficiente para a manutenção da atividade metabólica da microbiota dos lodos durante o período do ensaio.

Em função dos resultados apresentados nesta pesquisa, observa-se que, em geral, bioensaios estão sujeitos à influência das condições experimentais utilizadas, o que está de acordo com observações de outros autores (GERMIRLI; ORHON; ARTAN, 1991; PAGGA, 1997; ANGELIDAKI; SANDERS, 2004; MÜLLER; FROMMERT; JÖRG, 2004; AMARAL et al., 2008; SOUTO et al., 2010; KOWALCZYK et al., 2015). Neste contexto, os planejamentos fatoriais, como os realizados para esta pesquisa, mostraram-se relevantes como ferramentas para a avaliação dos fatores que podem influenciar os resultados dos bioensaios.

Além de permitirem avaliar a influência simultânea de determinados fatores sobre os resultados dos bioensaios, os planejamentos fatoriais podem ser utilizados para a determinação das condições experimentais ótimas. Sugere-se, portanto, que trabalhos futuros utilizem os bioensaios associados a planejamentos fatoriais para determinar as condições que favoreçam a biodegradação do lixiviado pela microbiota de lodos anaeróbios, permitindo a otimização dos sistemas associados.

4.4 RESULTADOS PARA O MONITORAMENTO DOS REATORES 1 E 2

A seguir são apresentados os resultados obtidos a partir do monitoramento da eficiência, das condições operacionais e ambientais e da estabilidade dos sistemas anaeróbios associados aos Reatores 1 e 2, durante as 10 fases utilizadas para a aclimação da microbiota ao lixiviado de aterro sanitário. A operação foi realizada durante 120 dias, para o Reator 1, e 112 dias, para o Reator 2. Ressalta-se que o lixiviado utilizado para a alimentação dos reatores, que havia sido armazenado à temperatura ambiente durante seis meses, estava recalcitrante, como indicado pelos resultados para a sua caracterização (Seção 4.1) e corroborado pelos resultados para os bioensaios (Seção 4.3).

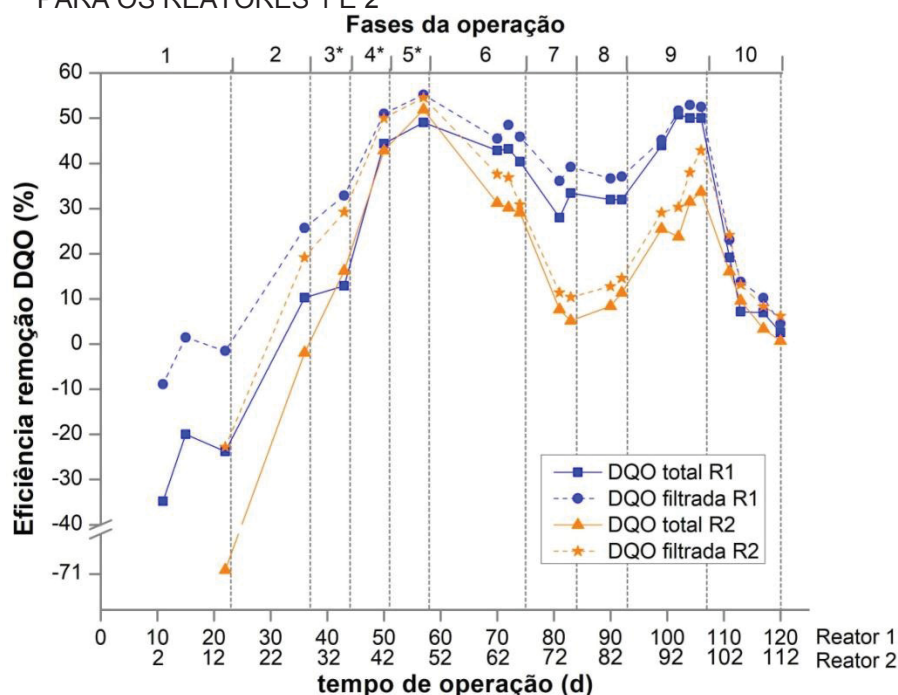
4.4.1 Resultados para a eficiência dos sistemas anaeróbios

A percentagem de redução da concentração da DQO, também denominada, neste texto, eficiência de remoção da DQO, foi selecionada como parâmetro indicativo da eficiência dos sistemas anaeróbios associados aos Reatores 1 e 2. A DQO foi avaliada tanto a partir do efluente bruto (DQO total) como de amostras filtradas do efluente dos reatores (DQO filtrada).

Com exceção das fases 3, 4 e 5, os resultados para a eficiência foram obtidos depois de completado, no mínimo, um ciclo para o TDH dos reatores. Este plano de amostragem foi estabelecido em função da observação que os valores para a concentração da DQO efluente estabilizavam apenas depois de completado o tempo mínimo para o TDH. Para as fases 3, 4 e 5, a eficiência foi determinada após sete dias decorridos do início da fase, e o TDH era de 10 dias. Assim, a eficiência média para as fases 3, 4 e 5 pode não representar adequadamente o comportamento dos sistemas anaeróbios durante o período correspondente.

Os resultados para a eficiência de redução da concentração da DQO, em função das fases operacionais, são apresentados na FIGURA 4.10.

FIGURA 4.10 – RESULTADOS PARA A EFICIÊNCIA DE REDUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA DQO PARA OS REATORES 1 E 2



FONTE: a autora (2020)

NOTA: DQO filtrada: DQO determinada para amostras de efluente filtradas em membrana de fibra de vidro com diâmetro de poro 0,6 µm; R1: Reator 1; R2: Reator 2; (*): fases para as quais a eficiência foi calculada antes que tivesse sido completado o ciclo para o TDH

A partir dos resultados para a concentração da DQO efluente dos Reatores 1 e 2, foram calculadas as eficiências médias de remoção da DQO para cada fase de operação. Os resultados são apresentados na TABELA 4.13.

TABELA 4.13 – RESULTADOS PARA AS MÉDIAS DE CONCENTRAÇÕES DA DQO EFLUENTE E EFICIÊNCIA PARA OS REATORES 1 E 2

Fase	N	DQO afluente (mg O ₂ /L)	DQO efluente total ± d. p. (mg O ₂ /L)	DQO efluente filtrada ± d. p. (mg O ₂ /L)	DQO _{filtrada} / DQO _{total}	Eficiência média de remoção DQO total (%)	Eficiência média de remoção DQO filtrada (%)
Resultados para o Reator 1							
1	6	500	631 ± 35	515 ± 36	0,82	-26,2	-3,0
2	2	1.000	898 ± 13	743 ± 0	0,83	10,3	25,7
3*	2	1.000	871 ± 18	672 ± 11	0,77	12,9	32,9
4*	2	2.000	1.112 ± 1	980 ± 30	0,88	44,4	51,0
5*	2	4.000	2.038 ± 35	1.794 ± 44	0,88	49,1	55,2
6	6	6.000	3.469 ± 83	3.201 ± 94	0,92	42,2	46,7
7	4	3.000	2.079 ± 102	1.871 ± 54	0,90	30,7	37,7
8	4	3.000	2.040 ± 31	1.893 ± 26	0,93	32,0	36,9
9	8	4.000	2.052 ± 122	1.978 ± 139	0,96	48,7	50,6
10	8	4.133	3.762 ± 280	3.599 ± 297	0,96	9,0	12,9
Resultados para o Reator 2							
1	2	500	855 ± 28	614 ± 11	0,72	-70,9	-22,8
2	2	1.000	1.019 ± 34	808 ± 6	0,79	-1,9	19,2
3*	2	1.000	839 ± 23	709 ± 9	0,84	16,2	29,2
4*	2	2.000	1.142 ± 1	1.001 ± 6	0,88	42,9	50,0
5*	2	4.000	1.926 ± 49	1.818 ± 19	0,94	51,9	54,6
6	6	6.000	4.192 ± 58	3.892 ± 198	0,93	30,1	35,1
7	4	3.000	2.806 ± 54	2.674 ± 33	0,95	6,5	10,9
8	4	3.000	2.704 ± 52	2.590 ± 79	0,96	9,9	13,7
9	8	4.000	2.847 ± 188	2.542 ± 330	0,89	28,8	35,1
10	8	4.133	3.826 ± 262	3.599 ± 307	0,94	7,4	12,9

FONTE: a autora (2020)

NOTA: N: número de amostras utilizadas para o cálculo das médias e dos desvios-padrões; d. p.: desvio-padrão; (*): fases para as quais a eficiência de remoção da DQO foi calculada antes que tivesse sido completado o ciclo para o TDH

Para avaliar a influência da aclimação prévia da microbiota sobre o desempenho dos sistemas anaeróbios aplicados ao tratamento do lixiviado, foram coletados lodos de duas origens. O Lodo 1, procedente de lagoa facultativa aplicada ao tratamento de lixiviado de aterro sanitário e com microbiota já adaptada a esta água residuária, foi comparado ao Lodo 2, proveniente de reator UASB utilizado para o tratamento de esgoto sanitário, com microbiota não aclimatada.

No entanto, previamente à inoculação nos reatores anaeróbios de bancada, estes lodos foram armazenados sob refrigeração, durante 6 meses, o que resultou na redução da atividade metanogênica especialmente para o Lodo 2, conforme apresentado no tópico 4.2.2. Dessa forma, como as condições de armazenamento

afetaram negativamente a microbiota, levando à possível perda de micro-organismos relevantes para o processo anaeróbio e exercendo efeito predominante sobre o comportamento dos lodos inoculados nos reatores, não foi possível realizar a comparação entre esses lodos quanto à exposição e adaptação prévia ao lixiviado.

4.4.1.1 Fases 1 e 2: utilização do lixiviado diluído

Após iniciada a operação dos reatores anaeróbios de bancada, durante a fase 1, apenas lixiviado diluído foi utilizado como substrato para a microbiota dos Lodos 1 e 2, inoculados, respectivamente, nos Reatores 1 e 2. A COV foi igual a 0,05 g DQO/L.d; o TDH igual a 10 dias; a concentração da DQO afluenta, atribuída unicamente ao lixiviado diluído, igual a 500 mg O₂/L.

Como pode ser observado a partir dos resultados apresentados na FIGURA 4.10 e na TABELA 4.13, a eficiência média de remoção da DQO total, para a fase 1 e para ambos os reatores, foi negativa (-26,2%, para o Reator 1; -70,9%, para o Reator 2). Isso pode ser justificado devido ao acúmulo da matéria orgânica nos sistemas associados, sendo a concentração da DQO efluente maior que a da afluenta. Estes resultados podem ser atribuídos ao substrato utilizado nesta fase, lixiviado diluído, e à concentração da DQO afluenta, 500 mg O₂/L. O lixiviado utilizado apresentava baixa concentração de matéria orgânica biodegradável, provavelmente insuficiente para a manutenção da atividade metabólica microbiana.

De acordo com os resultados para o bioensaio da biodegradabilidade anaeróbia (Seção 4.3.2), menores concentrações da DQO afluenta do lixiviado estiveram associadas a menores eficiências de remoção da DQO pelos Lodos 1 e 2, observação similar à apresentada para a fase 1 de operação dos reatores. Ainda, segundo os dados apresentados para os bioensaios, o aumento da concentração do lixiviado, para os níveis estudados (0,757 g DQO/L_{reação} e 1,514 g DQO/L_{reação}), levou à obtenção de maiores valores para a eficiência dos sistemas anaeróbios associados ao Lodos 1 e 2. Assim, em função destas observações, a concentração da DQO afluenta aos Reatores 1 e 2 foi aumentada durante a fase 2.

Na fase 2, o lixiviado diluído continuou a ser utilizado como substrato, porém a concentração da DQO afluenta foi aumentada para 1.000 mg O₂/L. Assim como observado para os bioensaios, realizados com os mesmos lodos inoculados nos Reatores 1 e 2, o aumento da concentração afluenta da DQO esteve relacionado a

maiores eficiências em relação à fase 1, cuja concentração da DQO afluente era de 500 mg O₂/L. Para a fase 2, as eficiências médias de remoção da DQO total foram 10,3%, para o Reator 1, e -1,9%, para o Reator 2. Estes valores médios de eficiência são significativamente maiores do que os obtidos para a fase 1 (-26,2%, para o Reator 1; -70,9%; pra o Reator 2), para ambos os reatores, conforme resultados obtidos para a ANOVA de fator único, para o nível de confiança de 95%.

Durante a realização das análises para a determinação da concentração da DQO efluente para as fases 1 e 2, observou-se que partículas de lodo arrastadas dos Reatores 1 e 2 contribuíam para o aumento dos valores deste parâmetro. As amostras de efluente dos reatores passaram, então, a ser filtradas e ter sua DQO determinada (DQO_{filtrada}), a fim de descontar a concentração da matéria orgânica associada às partículas de lodo eventualmente arrastadas dos sistemas anaeróbios.

A relação entre a DQO_{filtrada} e a DQO_{total} passou a ser também calculada. O valor obtido para esta relação pode ser interpretado como a fração da concentração da DQO total que pode ser atribuída unicamente às substâncias dissolvidas na amostra, sem contar as partículas sólidas arrastadas juntamente com o efluente e que foram retidas no filtro. Foi observado que a razão DQO_{filtrada}/DQO_{total} se relacionou, também, ao arraste de sólidos dos reatores, isto é, quanto mais próximo o valor da relação DQO_{filtrada}/DQO_{total} estivesse de 1, menor o arraste de sólidos. Por outro lado, quanto menor o valor da relação DQO_{filtrada}/DQO_{total}, maior a quantidade de partículas sólidas dos lodos observada no efluente dos Reatores 1 e 2.

Conforme resultados apresentados na TABELA 4.13, é possível observar que, entre as fases de operação e para ambos os reatores, os menores valores para a relação DQO_{filtrada}/DQO_{total} foram obtidos para a fase 1 (0,82, para o Reator 1; 0,72, para o Reator 2) e fase 2 (0,83, para o Reator 1; 0,79, para o Reator 2). De fato, para as fases 1 e 2, foi observado o arraste de sólidos durante a coleta e descarte do efluente dos Reatores 1 e 2, o que está de acordo com os resultados obtidos para a relação DQO_{filtrada}/DQO_{total} para estas fases. Como sugerido a partir dos resultados para os bioensaios (Seção 4.3.1.4), o lixiviado utilizado como substrato durante a operação dos reatores pode não ter fornecido concentração suficiente de matéria orgânica biodegradável para a microbiota, limitando a produção e secreção de polímeros extracelulares que contribuiriam para a agregação e sedimentação das partículas dos lodos inoculados nos sistemas anaeróbios.

A perda de sólidos por arraste durante o descarte e remoção do efluente foi observada por outros autores que avaliaram o tratamento de lixiviado de aterro sanitário em reatores em bateladas sequenciais (ROCHA, 2011; CONTRERA et al., 2018), e pode ser considerada como um dos principais problemas associados a este tipo de sistema. Dessa forma, perdas de lodo por arraste devem ser evitadas, pois podem levar à redução da eficiência dos sistemas biológicos. Assim, em função dos resultados e observações apresentados anteriormente, e visando à diminuição do arraste de sólidos dos Reatores 1 e 2, o lixiviado foi suplementado com glicose entre as fases 3 e 9, na proporção de 1/1 da concentração da DQO adicionada, isto é, 50% da concentração da DQO afluente era atribuída ao lixiviado e 50% à glicose.

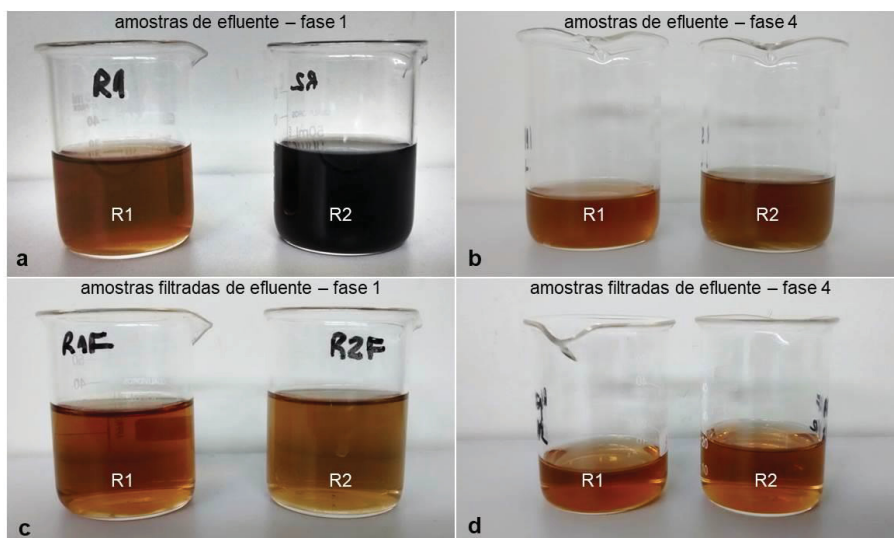
4.4.1.2 Fases 3 a 9: utilização da glicose como fonte suplementar de carbono

O primeiro efeito observado da adição da glicose ao substrato foi o menor arraste de sólidos dos Reatores 1 e 2. A partir dos resultados apresentados na TABELA 4.13, é possível observar que os valores para a relação $DQO_{filtrada}/DQO_{total}$ aumentaram a partir da fase 4, para o Reator 1, e a partir da fase 3, para o Reator 2. Após o início da suplementação do lixiviado com glicose, os valores da relação $DQO_{filtrada}/DQO_{total}$ variaram entre 0,88 e 0,96, para o Reator 1, e entre 0,84 e 0,96, para o Reator 2. Estes resultados sugerem que, a partir da fase 3, com a adição da glicose, a agregação e sedimentação dos flocos biológicos foi favorecida, levando à diminuição da perda de partículas de lodo por arraste.

O menor arraste de sólidos, identificado a partir da fase 3, foi também observado por meio da inspeção visual das amostras de efluente dos Reatores 1 e 2. Na FIGURA 4.11 são apresentadas imagens das amostras de efluente coletadas durante as fases 1 e 4. São comparadas as amostras brutas e as filtradas.

Nas FIGURAS 4.11a e 4.11c são apresentadas amostras de efluente dos Reatores 1 e 2, coletadas na fase 1, porém antes e depois da filtração, respectivamente. Ao compará-las, é possível observar que as amostras antes da filtração apresentavam-se turvas e mais escuras, sobretudo para o Reator 2. A cor escura da amostra deste reator é devida, sobretudo, às partículas do Lodo 2, que permaneceram em suspensão durante as fases 1 e 2 e foram arrastadas juntamente com o efluente. A suspensão e arraste das partículas do lodo inoculado no Reator 1 também ocorreu, embora de maneira menos acentuada que para o Reator 2.

FIGURA 4.11 – AMOSTRAS DE EFLUENTE DOS REATORES 1 E 2



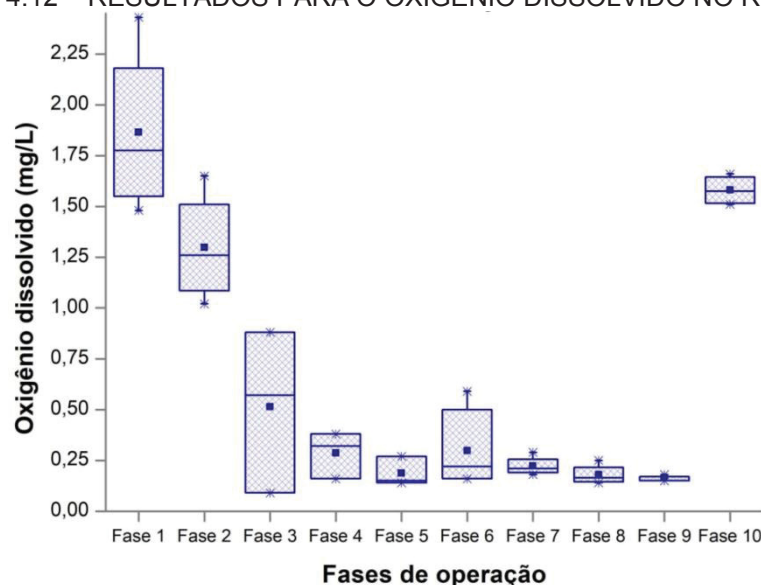
FONTE: a autora (2020)

NOTA: R1: Reator 1; R2: Reator 2

As imagens b e d, componentes da FIGURA 4.11, correspondem, respectivamente, às amostras de efluente dos Reatores 1 e 2 antes e após a filtração, coletadas durante a fase 4. Ao compará-las às fotografias a e b, é possível observar que, para a fase 4, as amostras brutas não apresentavam diferença de coloração tão marcante em relação às amostras filtradas, como observado para a fase 1. Isso sugere que, de fato, o arraste de sólidos juntamente com o efluente dos Reatores 1 e 2 foi diminuído a partir da suplementação do lixiviado com glicose. A glicose provavelmente estimulou a síntese e excreção de substâncias poliméricas extracelulares pela microbiota dos lodos dos reatores, levando à agregação e sedimentação dos flocos biológicos, conforme observações realizadas para o bioensaio visando à determinação da DQO solúvel inerte (Seção 4.3.1.4).

Outro resultado que pode ser atribuído à suplementação do lixiviado com glicose é a diminuição da concentração do oxigênio dissolvido no efluente dos Reatores 1 e 2, como pode ser observado a partir dos dados apresentados na FIGURA 4.12, para o Reator 1, e na FIGURA 4.13, para o Reator 2.

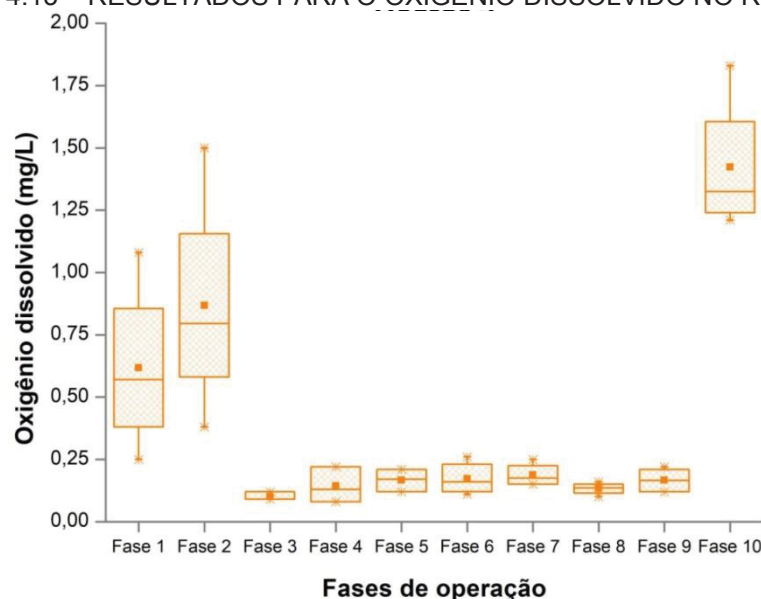
FIGURA 4.12 – RESULTADOS PARA O OXIGÊNIO DISSOLVIDO NO REATOR 1



FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: (*): valores máximos e mínimos observados para a fase; (■): valor médio para a fase; (|): intervalo para os percentis 5-95%; (—): quartis 25%, 50% e 75%

FIGURA 4.13 – RESULTADOS PARA O OXIGÊNIO DISSOLVIDO NO REATOR 2



FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: (*): valores máximos e mínimos observados para a fase; (■): valor médio para a fase; (|): intervalo para os percentis 5-95%; (—): quartis 25%, 50% e 75%

Como pode ser observado a partir dos resultados apresentados na FIGURA 4.12, as concentrações médias de oxigênio dissolvido determinadas para as fases 1, 2 e 10 foram significativamente maiores que para as demais, para o Reator 1. Resultados similares foram obtidos para o Reator 2, conforme dados apresentados na FIGURA 4.13. Para ambos os reatores, a alimentação com lixiviado como único substrato, realizada nas fases 1, 2 e 10, resultou em concentrações médias de

oxigênio dissolvido entre 0,6 e 1,9 mg/L, mais elevadas do que as esperadas para o processo anaeróbio, próximas a zero. Para as demais fases (3 a 9), em que, além do lixiviado, a glicose foi utilizada como substrato, a concentração média de oxigênio dissolvido variou entre 0,1 e 0,5 mg/L, para os Reatores 1 e 2.

Embora as concentrações potencialmente inibitórias à microbiota anaeróbia sejam, em geral, mais elevadas que as observadas neste estudo, para o qual a maior concentração média foi 1,9 mg/L, o oxigênio dissolvido pode levar à competição por substrato entre os micro-organismos aeróbios e facultativos e os estritamente anaeróbios (KATO; FIELD; LETTINGA, 1997), limitando a conversão da matéria orgânica a biogás por estes últimos.

Em condições não anaeróbias, os micro-organismos facultativos eventualmente presentes nos lodos podem consumir a matéria orgânica mediante utilização do oxigênio dissolvido como aceptor de elétrons, deixando de realizar as reações bioquímicas associadas à acidogênese, responsáveis pela produção de substratos para as microbiotas sintrófica e metanogênica. Dessa forma, sugere-se que, quando alimentados apenas com lixiviado (fases 1, 2 e 10), os sistemas anaeróbios estiveram submetidos a concentrações de oxigênio dissolvido que poderiam limitar a atividade metanogênica, principalmente pela competição com micro-organismos facultativos. Porém, entre as fases 3 e 9, a glicose pode ter estimulado o metabolismo microbiano facultativo até que o oxigênio dissolvido remanescente fosse consumido, e a condição anaeróbia foi estabelecida.

A suplementação da glicose ao lixiviado também esteve associada a maiores valores para a eficiência dos dois sistemas avaliados, especialmente quando relacionada a concentrações mais elevadas da DQO afluente e maiores COVs. Durante a fase 3, caracterizada pelo início da adição da glicose, a eficiência média de remoção da DQO total para o Reator 1, 12,9%, foi similar à obtida para a fase 2, 10,3%, em que apenas lixiviado diluído foi alimentado. Por outro lado, para o Reator 2, a adição da glicose teve efeito mais notável em curto prazo, visto que a eficiência média de remoção da DQO total para a fase 3, 16,2%, foi maior que para a fase 2, -1,9%. Para a fase 4, em que a COV foi aumentada para 0,2 g DQO/L.d e a concentração da DQO afluente para 2.000 mg O₂/L, foram obtidos valores consideravelmente maiores para as eficiências médias em comparação às fases anteriores, para ambos os sistemas: 44,4%, para o Reator 1; 42,9%, para o Reator 2. Para a fase 5, caracterizada pelo aumento da COV para 0,4 g DQO/L.d e da DQO

afluente para 4.000 mg O₂/L, foram obtidas eficiências médias de remoção da DQO total de 49,1%, para o Reator 1, e 51,9%, para o Reator 2.

Embora possam não ser representativos do comportamento dos sistemas anaeróbios durante o período avaliado, conforme explicação prévia, os resultados para as eficiências médias associadas às fases 3, 4 e 5, maiores que os obtidos para as fases 1 e 2, sugerem que a suplementação do lixiviado com uma fonte assimilável de carbono, a glicose, esteve relacionada ao melhor desempenho da microbiota dos reatores 1 e 2.

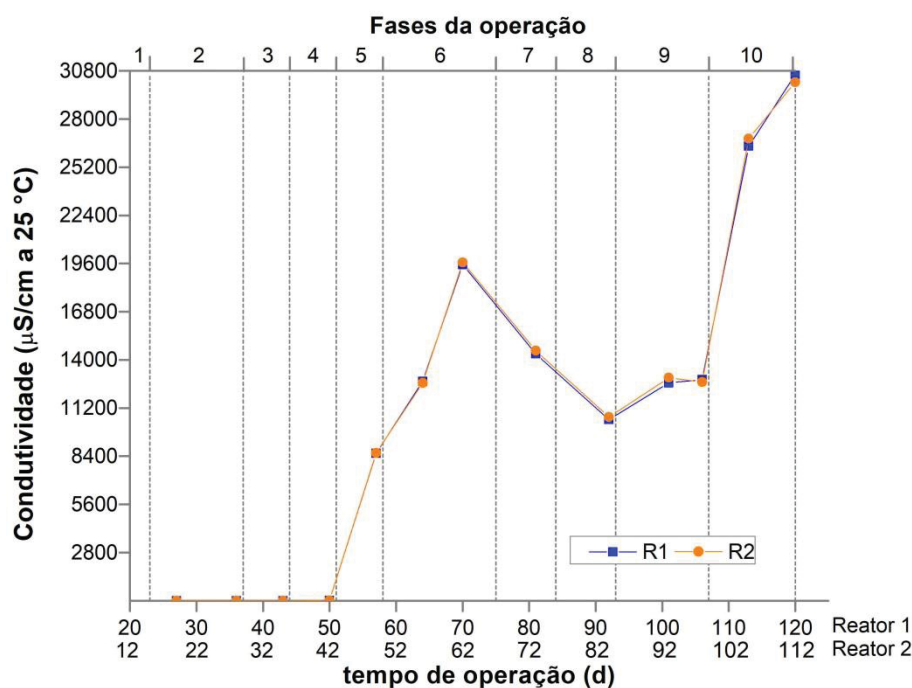
Neste sentido, a suplementação do lixiviado foi utilizada também por Contrera e colaboradores (2018). Ao avaliar o desempenho de um reator de biofilme em bateladas sequenciais, em escala piloto, estes autores observaram que, por vezes, o lixiviado apresentava elevada recalcitrância e levava a falhas do sistema anaeróbio. Assim, optaram, nestes casos, por adicionar ao lixiviado uma fonte de carbono (etanol ou ácidos orgânicos de cadeia curta), para favorecer a aclimação da microbiota. Após a aclimação realizada mediante a adição de uma fonte suplementar ao lixiviado, obtiveram eficiência de remoção da DQO superior a 70%.

Neste estudo e naquele realizado por Contrera e colaboradores (2018), foram utilizadas substâncias comerciais de elevada pureza para estimular o crescimento e a manutenção da microbiota anaeróbia e favorecer sua aclimação a um substrato recalcitrante, o lixiviado de aterro sanitário. Sugere-se, porém, que outros substratos possam servir à mesma função. Assim, recomenda-se que águas residuárias ou outros resíduos sejam avaliados como fontes suplementares de matéria orgânica biodegradável para a microbiota de lodos anaeróbios utilizada para o tratamento de substratos recalcitrantes, como o utilizado nesta pesquisa, lixiviado que havia sido armazenado durante seis meses.

4.4.1.3 Fase 6: aclimação dos lodos a condições ambientais

A fase 6 foi caracterizada, principalmente, pela maior concentração da DQO afluente avaliada nesta pesquisa, 6.000 mg O₂/L. A COV associada foi 0,6 g DQO/L.d, e o lixiviado foi suplementado com glicose. Nesta fase, também foram obtidos valores elevados para a condutividade do efluente dos reatores, sendo menores apenas que aqueles determinados para a fase 10, como pode ser observado a partir dos resultados apresentados na FIGURA 4.14.

FIGURA 4.14 – RESULTADOS PARA A CONDUTIVIDADE NOS REATORES 1 E 2



FONTE: a autora (2020)

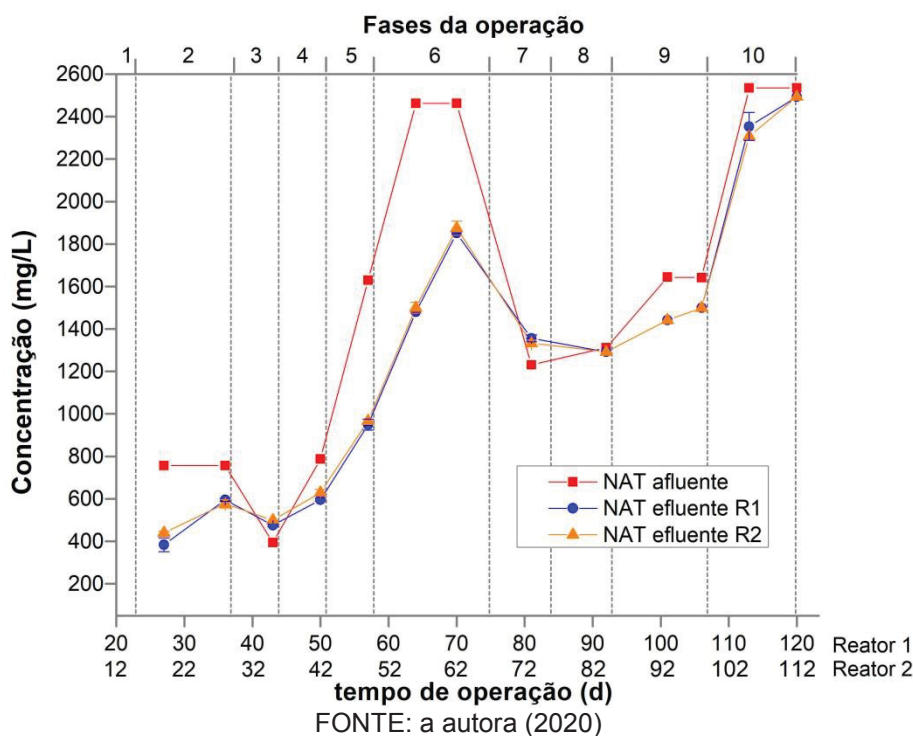
NOTA: R1: Reator 1; R2: Reator 2

A partir dos dados apresentados na FIGURA 4.14, é possível observar que os valores para a condutividade do efluente dos Reatores 1 e 2 foram similares entre si, tendo ocorrido a sobreposição dos resultados para as amostras coletadas dos dois sistemas ao longo da operação. Entre as fases 2 e 4, a condutividade a 25 °C para ambos os reatores variou entre 3,66 e 5,49 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Entre as fases 5 e 10, os valores para a condutividade aumentaram cerca de 1.000 vezes em relação às fases iniciais, e variaram entre 8,57 e 30,59 mS/cm . A condutividade esteve associada à presença de sais dissolvidos e íons no efluente dos reatores, e pode ser atribuída, majoritariamente, ao lixiviado utilizado como substrato.

Durante a fase 6, os resultados para a condutividade a 25 °C foram: 19,54 mS/cm , para o Reator 1; 19,66 mS/cm , para o Reator 2. Com exceção da fase 10, em que o lixiviado puro foi alimentado aos reatores, os valores da condutividade para a fase 6 foram os maiores observados ao longo da operação dos sistemas anaeróbios. Também durante esta fase, foram obtidos alguns dos maiores valores para a eficiência média de remoção da DQO, quando consideradas apenas as amostras coletadas após completado o TDH: 42,2%, para o Reator 1, e 30,1%, para o Reator 2. Estes resultados indicam que ocorreu a adequada aclimação da microbiota ao lixiviado nesta fase, mesmo quando os sistemas anaeróbios estiveram submetidos a elevadas concentrações de íons, avaliadas por meio da condutividade.

Outra condição ambiental avaliada, associada ao lixiviado utilizado como substrato, foi a concentração de NAT. Os resultados obtidos em função das fases de operação dos Reatores 1 e 2 são apresentados na FIGURA 4.15.

FIGURA 4.15 – RESULTADOS PARA O NAT NOS REATORES 1 E 2



Os resultados para a concentração efluente de NAT em função das fases operacionais foram similares para os Reatores 1 e 2, como observado a partir dos dados apresentados na FIGURA 4.15. A concentração afluenta de NAT, igual para ambos os reatores, variou entre 394 mg NH_4^+ /L (fase 3) e 2.535 mg NH_4^+ /L (fase 10), e esteve diretamente relacionada ao volume e à diluição do lixiviado utilizado.

Durante a fase 6, em função da concentração da DQO afluenta (6.000 mg O_2 /L), os sistemas anaeróbios associados aos Reatores 1 e 2 foram submetidos a uma elevada concentração de NAT afluenta, 2.462 mg NH_4^+ /L. Também durante esta fase, foram obtidos alguns dos maiores valores para a eficiência destes sistemas, 42,2%, para o Reator 1, e 30,1%, para o Reator 2, sendo as percentagens referentes à redução da concentração da DQO total. Estes resultados sugerem que a microbiota inoculada nos Reatores 1 e 2 foi aclimatada a concentrações de NAT de até 2.500 mg NH_4^+ /L, não tendo sido observada a redução da eficiência dos sistemas anaeróbios em decorrência desta condição ambiental.

O NAT tem sido apontado como um dos principais interferentes do processo anaeróbio. Os primeiros estudos que buscaram avaliar a sua influência sobre a microbiota sugeriam que, em pH básico, concentrações superiores a 1.500 mg NH_4^+/L já seriam inibitórias (ALBERTSON, 1961; MCCARTY, 1964c; PARKIN et al., 1983). Contudo, estudos mais recentes têm demonstrado que estas concentrações podem ser superadas sem a redução significativa da eficiência dos sistemas associados, mediante aclimação da microbiota.

Por exemplo, Bonk e colaboradores (2018), ao avaliarem a influência do NAT sobre a eficiência da degradação anaeróbia de uma mistura de ácidos orgânicos de cadeia curta, observaram a aclimação da microbiota após a exposição dos sistemas a uma concentração de NAT de, aproximadamente, 5.000 mg NH_4^+/L . Park e colaboradores (2018) também observaram a aclimação da microbiota anaeróbia mesofílica, inoculada em reatores de bancada, a concentrações de NAT entre 1.000 e 2.500 mg NH_4^+/L , para uma mistura de ácidos orgânicos de cadeia curta utilizada como substrato. Finalmente, como sugerem os resultados desta pesquisa, a microbiota inoculada nos dois reatores foi capaz de tolerar concentração afluente de NAT de até 2.500 mg NH_4^+/L , sem perda da eficiência dos sistemas associados.

4.4.1.4 Fases 7 a 9: aclimação dos lodos a condições operacionais

Uma condição operacional que teve influência sobre os sistemas anaeróbios avaliados foi o TDH. Ao final da fase 6, em que o TDH era de 10 dias, a eficiência média de remoção da DQO total era de 42,2%, para o Reator 1, e 30,1%, para o Reator 2. No entanto, para a fase 7, após a mudança do TDH para 5 dias, mantida a mesma COV da fase 6 (0,6 g DQO/L.d), a eficiência de remoção da DQO de ambos os sistemas diminuiu: a média foi de 30,7%, para o Reator 1, e 6,5%, para o Reator 2. A redução da eficiência foi também observada para a fase 8, em que o TDH foi de 5 dias. Para esta fase, foram obtidas médias de remoção da DQO total de 32,0%, para o Reator 1, e 9,9%, para o Reator 2. A redução da eficiência observada para ambos os reatores durante as fases 7 e 8, em comparação à fase 6, é estatisticamente significativa, conforme resultados para a ANOVA de fator único, em nível de confiança de 95%.

Resultados de outros estudos mostraram que a redução do TDH para digestores anaeróbios esteve associada a mudanças na dinâmica populacional microbiana, sendo a alteração desta condição operacional um fator de seleção de grupos microbianos específicos em detrimento de outros (ZIGANSHIN et al., 2016; XU et al., 2018). Isso poderia explicar a diminuição da eficiência do processo anaeróbio em curto prazo, observada neste estudo, pois a redução do TDH pode ter induzido mudanças abruptas na composição da comunidade microbiana dos lodos inoculados. Conforme sugerido a partir das análises de microscopia óptica (Seção 4.5.2.1), também é possível que tenha ocorrido a desagregação dos flocos biológicos dos lodos dos reatores em função da redução do TDH, o que foi observado também por Xu e colaboradores (2018) durante a avaliação das condições operacionais para digestores anaeróbios.

Apesar de ter sido observada a significativa redução da eficiência de remoção da DQO durante as fases 7 e 8, para os Reatores 1 e 2, ambos os sistemas se recuperaram após aproximadamente 20 dias, após a mudança do TDH de 10 para 5 dias. Algumas das maiores eficiências de remoção da DQO total foram, inclusive, obtidas para a fase 9 (48,7%, para o Reator 1; 28,8%, para o Reator 2), em que o TDH era de 4 dias. Estes resultados indicam que a redução do TDH teve impacto negativo sobre os sistemas anaeróbios apenas em curto prazo e que, para um sistema anaeróbio não agitado mecanicamente em que a microbiota tenha sido previamente aclimatada, o TDH de 4 dias, ou menor, possa ser adequado. A adaptação da microbiota e a manutenção da eficiência do processo anaeróbio para esta condição operacional pode ser vantajosa, pois TDH menores estão associados a sistemas de tratamento mais compactos e a processos mais econômicos.

Durante a fase 8, as condições operacionais foram mantidas iguais às da fase 7: COV de 0,6 g DQO/L.d, DQO afluente igual a 3.000 mg O₂/L, TDH de 5 dias, substrato composto de lixiviado e glicose e temperatura mantida na faixa mesofílica. Entretanto, durante a fase 8, solução de fosfato passou a ser adicionada aos reatores. O nutriente foi adicionado, nesta fase, de forma que a relação máxima entre a DQO e o fósforo fosse de 200/1.

Os valores para a eficiência média de remoção da DQO total para a fase 8 foram 32,0%, para o Reator 1, e 9,9%, para o Reator 2. Conforme resultados obtidos para a ANOVA de fator único, em nível de confiança de 95%, estas médias de eficiência não são significativamente diferentes das obtidas para a fase 7 (30,7%,

para o Reator 1, e 6,5%, para o Reator 2), em que não houve a adição de fosfato suplementar. Este resultado sugere que a adição do fosfato não teve efeito sobre a eficiência de nenhum dos dois sistemas, para o período considerado (fases 7 e 8) e nas condições do ensaio.

Resultado similar foi obtido por Rocha (2011), não tendo sido observada diferença significativa entre o desempenho de um sistema anaeróbio cuja concentração de fosfato havia sido corrigida e um sistema controle, sem adição do nutriente. Vale destacar, porém, que neste estudo e naquele realizado por Rocha (2011), o período de avaliação do efeito do fosfato foi curto, isto é, 7 dias para cada fase (15 dias ao total) e 20 dias, respectivamente. Sugere-se, portanto, que períodos maiores sejam considerados em estudos futuros.

Embora a suplementação do fosfato ao lixiviado não tenha se relacionado à maior eficiência de remoção da DQO pelos Reatores 1 e 2, para as fases 7 e 8, o fósforo adicional pode ter favorecido o crescimento de micro-organismos filamentosos nos lodos anaeróbios, como sugerem os resultados para as análises de microscopia (Seção 4.5.2). Esses micro-organismos, quando presentes em elevadas concentrações, podem causar problemas como o *bulking* e a perda de lodo dos sistemas associados. Esta observação permite recomendar que não sejam monitorados apenas parâmetros químicos para a avaliação do processo anaeróbio, como a eficiência de remoção da DQO, mas também parâmetros microbiológicos e a influência de condições operacionais e ambientais sobre a microbiota durante o tratamento de águas residuárias.

Durante a fase 9, a suplementação do lixiviado com fosfato, na proporção de 200/1 (DQO/P), continuou a ser realizada. Para esta fase e para a fase 8, foram determinadas as concentrações afluente e efluente de ortofosfato. A partir dos resultados, foram calculadas, finalmente, as eficiências médias de assimilação do ortofosfato pela microbiota dos Reatores 1 e 2, durante as fases em que fosfato foi adicionado ao lixiviado. As eficiências médias de remoção deste nutriente, durante as fases 8 e 9, foram de 47,7%, para o Reator 1, e 38,0 %, para o Reator 2.

Estes resultados indicam que mais da metade do fosfato suplementado não foi assimilado durante as fases 8 e 9, sendo descartado juntamente com o efluente de ambos os reatores. Os resultados sugerem, também, que a proporção adequada entre DQO/P possa ser diferente da utilizada, 200/1. Além disso, a adição do fosfato, em combinação à glicose utilizada como fonte suplementar de carbono, pode não ter

sido vantajosa, visto que, para as condições experimentais avaliadas, houve a proliferação de micro-organismos indesejados em elevadas concentrações, os filamentosos, sem aumento significativo da eficiência de remoção da DQO.

Durante a fase 9, os resultados para a eficiência média de remoção da DQO total foram 48,7%, para o Reator 1, e 28,6%, para o Reator 2. Nesta fase, as condições operacionais associadas foram COV de 1,0 g DQO/L.d; concentração da DQO afluyente igual a 4.000 mg O₂/L, sendo 50% desta associada ao lixiviado e 50% à glicose; TDH de 4 dias; adição de fosfato na proporção DQO/P de 200/1. Os valores da eficiência dos sistemas para esta fase, os maiores obtidos ao longo da operação dos reatores, quando consideradas as amostras coletadas após completado o TDH, sugerem, portanto, que a microbiota dos Reatores 1 e 2 foi aclimatada às condições operacionais da fase 9. As condições ambientais observadas para esta mesma fase, para ambos os reatores, foram: concentração de oxigênio dissolvido inferior a 0,2 mg/L; condutividade a 25 °C de 12,8 mS/cm; concentração de NAT afluyente de, aproximadamente, 1.650 mg NH₄⁺/L.

A COV de 1,0 g DQO/L.d, a maior aplicada nesta pesquisa, se relacionou às máximas eficiências de remoção da DQO observadas ao longo deste estudo, sendo os valores médios obtidos para este parâmetro iguais a 48,7%, para o Reator 1, e 28,6%, para o Reator 2, durante a fase 9. A adaptação da microbiota dos lodos anaeróbios a COV elevadas é vantajosa, pois COV maiores estão associadas à maior capacidade dos sistemas de tratamento e/ou ao tratamento de maiores volumes de águas residuárias em intervalos menores de tempo, levando, conseqüentemente, a processos mais econômicos. Ademais, a aclimação da microbiota a COV elevadas é importante porque permite reduzir o tempo de partida dos sistemas anaeróbios de tratamento de águas residuárias, etapa frequentemente apontada como limitante para a aplicação do processo anaeróbio (MCCARTY, 1964a; ANNACHHATRE, 1996; OZ et al., 2012; CHERNICHARO, 2016).

4.4.1.5 Fases 6 a 9: diferenças entre as eficiências dos Reatores 1 e 2

Embora os resultados obtidos durante a fase 9 indiquem que não houve redução da eficiência dos dois sistemas anaeróbios em função das condições operacionais e ambientais associadas a esta fase, sugerindo a aclimação da microbiota, foi observada a diferença significativa entre os resultados para os

Reatores 1 e 2. Para o Reator 1, a eficiência média de remoção da DQO total, na fase 9, foi 48,7%; por outro lado, para o Reator 2, a eficiência foi 28,8%. Estes valores são estatisticamente diferentes entre si, em nível de confiança de 95%, de acordo com análise realizada por meio do teste *t*.

Durante a fase 9, a suplementação do lixiviado com glicose continuou a ser realizada, para favorecer a manutenção da atividade metabólica da microbiota durante sua aclimação à água residuária. Assim, para aprofundar a avaliação sobre os possíveis fatores que explicariam as diferenças observadas entre as eficiências médias dos Reatores 1 e 2 nesta fase, foi realizado um ensaio para a determinação da assimilação da glicose pela microbiota dos lodos inoculados. Os resultados são apresentados na TABELA 4.14.

TABELA 4.14 – RESULTADOS PARA AS CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE PARA OS REATORES 1 E 2 DURANTE A FASE 9

Reator	Concentração afluenta de glicose \pm d. p. (mg/L)	Concentração efluente de glicose \pm d. p. (mg/L)	Eficiência de assimilação da glicose (%)
R1	1.912 \pm 51	111 \pm 12	94,2
R2		97 \pm 14	94,9

FONTE: a autora (2020)

NOTA: d. p.: desvio-padrão; R1: Reator 1; R2: Reator 2

Como observado a partir dos resultados apresentados na TABELA 4.14, a eficiência de assimilação da glicose foi similar para os sistemas associados aos dois reatores (94,2%, para o Reator 1; 94,9%, para o Reator 2). Além disso, a glicose afluenta, utilizada como substrato suplementar ao lixiviado, foi quase totalmente consumida pela microbiota dos Reatores 1 e 2. Este resultado sugere que, ao menos para a fase 9, os micro-organismos acidogênicos, principais responsáveis pela assimilação da glicose e conversão desta a ácidos orgânicos e outros produtos, tiveram desempenho similar para os dois reatores.

Em função destes resultados, sugere-se que a diferença observada entre as eficiências médias para os dois reatores durante a fase 9 seja devida especialmente à microbiota sintrófica e metanogênica. É possível que as bactérias sintróficas e as arqueas metanogênicas presentes no lodo de reator UASB, que havia sido armazenado por seis meses antes de ser inoculado no Reator 2, estivessem em desequilíbrio em relação à população acidogênica, tornando o sistema associado mais propenso ao acúmulo de ácidos orgânicos. Estas sugestões estão de acordo com os resultados para a concentração da AVT dos efluentes dos frascos utilizados

para a determinação da AME (Seção 4.2.3), sendo o valor deste parâmetro 5,5 vezes maior para o Lodo 2, em comparação ao Lodo 1.

A diferença entre a eficiência média dos sistemas anaeróbios associados aos Reatores 1 e 2 foi significativa para a fase 9 (48,7%, para o R1; 28,8%, para o R2) e também para a fase 6 (42,2%, para o R1; 30,1%, para o R2), fase 7 (30,7%, para o R1; 6,5%, para o R2) e fase 8 (32,0%, para o R1; 9,9%, para o R2), conforme resultados obtidos para o teste *t*, em nível de confiança de 95%. Foram desconsideradas na comparação entre a eficiência para os dois sistemas as fases 3, 4 e 5, pois os resultados associados poderiam estar comprometidos em função da coleta das amostras, realizada antes que tivesse sido completado o ciclo do TDH.

Como os resultados obtidos para a fase 9 sugeriram que o sistema associado ao Reator 2 poderia estar sujeito ao acúmulo de ácidos orgânicos, esta condição foi avaliada, indiretamente, por meio da determinação da concentração da AVT. Também foi determinada a concentração da AT. Os valores para estes parâmetros, para cada fase, foram comparados entre os Reatores 1 e 2. Os resultados são apresentados na TABELA 4.15.

TABELA 4.15 – RESULTADOS PARA AS MÉDIAS DE CONCENTRAÇÕES DE AT E AVT PARA OS REATORES 1 E 2

Fase	N	AT \pm d. p. (mg CaCO ₃ /L)		AVT \pm d. p. (mg HAc/L)	
		Reator 1	Reator 2	Reator 1	Reator 2
1	5 (R1); 4 (R2)	1.126 \pm 80	1.003 \pm 39	122 \pm 9	119 \pm 10
2	4	1.427 \pm 213	1.470 \pm 188	135 \pm 14	125 \pm 3
3	6	1.500 \pm 82	1.528 \pm 83	155 \pm 3	126 \pm 4
4	6	1.586 \pm 67	1.578 \pm 74	295 \pm 101	209 \pm 94
5	6	2.293 \pm 324	2.242 \pm 296	737 \pm 254	687 \pm 252
6	14	4.416 \pm 852	4.301 \pm 830	1.477 \pm 120	1.843 \pm 392
7	8	4.017 \pm 501	3.905 \pm 464	845 \pm 178	1.620 \pm 206
8	8	3.467 \pm 57	3.419 \pm 25	616 \pm 30	1.190 \pm 117
9	12	3.955 \pm 180	3.981 \pm 182	692 \pm 44	1.104 \pm 72
10	8	6.307 \pm 283	6.380 \pm 178	893 \pm 65	855 \pm 38

FONTE: a autora (2020)

NOTA: N: número de amostras utilizadas para o cálculo das médias e dos desvios-padrões; d. p.: desvio-padrão; R1: Reator 1; R2: Reator 2

As concentrações médias da AT, obtidas para cada fase e reator, foram comparadas por meio do teste *t*. Em nível de confiança de 95%, apenas a concentração da AT para a fase 1 foi diferente entre os Reatores 1 e 2 (1.126 mg CaCO₃/L e 1.003 mg CaCO₃/L, respectivamente). Para as demais fases, 2 a 10, as

concentrações médias da AT, apresentadas na TABELA 4.15, não podem ser consideradas estatisticamente diferentes entre os Reatores 1 e 2. A principal fonte da AT para os sistemas estudados foi o lixiviado de aterro sanitário. Dessa forma, como o volume de lixiviado alimentado diariamente aos dois reatores foi igual, durante toda a operação, a concentração da AT, proveniente, sobretudo, desta água residuária, se manteve similar para os dois sistemas avaliados.

A mesma comparação entre médias foi realizada para as concentrações de AVT determinadas para os Reatores 1 e 2, em função das diferentes fases de operação. Para a fase 3, caracterizada pelo início da suplementação do lixiviado com a glicose, a concentração da AVT foi significativamente maior para o Reator 1 (154,6 mg HAc/L), em comparação ao Reator 2 (126,1 mg HAc/L), em nível de confiança de 95%. Este resultado sugere que o sistema anaeróbio associado ao Reator 1 teve maior acúmulo inicial de ácidos orgânicos de cadeia curta que o observado para o Reator 2, quando alimentados com glicose. Todavia, a partir da fase 6, a concentração da AVT passou a ser significativamente maior para o Reator 2, em comparação ao Reator 1, para o mesmo nível de confiança.

A concentração significativamente maior da AVT para o Reator 2 foi observada para a fase 6 (1.477 mg HAc/L, para o R1; 1.843 mg HAc/L, para o R2), fase 7 (845 mg HAc/L, para o R1; 1.620 mg HAc/L, para o R2), fase 8 (616 mg HAc/L, para o R1; 1.190 mg HAc/L, para o R2) e fase 9 (692 mg HAc/L, para o R1; 1.104 mg HAc/L, para o R2), todas realizadas mediante suplementação do lixiviado com glicose. O nível de confiança foi estabelecido em 95%. Estes resultados sugerem que, de fato, houve o acúmulo de ácidos orgânicos de cadeia curta no Reator 2, e este acúmulo foi significativamente mais acentuado que para o Reator 1 durante as fases 6, 7, 8 e 9.

Como previamente apresentado, a eficiência média de remoção da DQO foi maior para o Reator 1, em comparação ao Reator 2, durante as fases 6, 7, 8 e 9. Em função da correlação destes resultados com os valores da concentração da AVT para os Reatores 1 e 2, sugere-se que a principal diferença observada entre as eficiências destes sistemas seja atribuída ao maior acúmulo de ácidos orgânicos para o Reator 2, durante as fases em que a glicose foi suplementada ao lixiviado. As maiores concentrações médias da AVT determinadas para o Reator 2 durante as fases 6, 7, 8 e 9 estão, provavelmente, associadas a maiores concentrações da DQO efluente, visto que os ácidos orgânicos são incluídos nos resultados para este

parâmetro. Isso, por sua vez, levou à obtenção de menores eficiências para a remoção da DQO, identificadas para o Reator 2 durante as fases 6, 7, 8 e 9.

4.4.1.6 Fase 10: utilização do lixiviado puro

Apesar de identificadas diferenças entre as eficiências de remoção da DQO dos sistemas durante as fases em que a glicose foi suplementada ao lixiviado, foram obtidos resultados similares para os Reatores 1 e 2 durante a fase 10, em que apenas lixiviado puro foi alimentado. Para esta fase, a eficiência média de remoção da DQO total foi 9,0%, para o Reator 1, e 7,4%, para o Reator 2. Em nível de confiança de 95%, estas médias não podem ser consideradas diferentes entre si, conforme resultados para o teste *t*. Isso sugere que, quando exposta a um substrato recalcitrante, como o lixiviado utilizado, a microbiota dos dois sistemas anaeróbios esteve sujeita à mesma pressão ambiental, que pode ter induzido mudanças similares na dinâmica populacional dos lodos inoculados nos Reatores 1 e 2.

A comparação entre os resultados médios de eficiência de remoção da DQO, obtidos para a fase 10 de operação dos Reatores 1 e 2 e para o bioensaio da biodegradabilidade anaeróbia, sugere que uma condição que pode contribuir para a aclimação da microbiota ao lixiviado é o regime de operação.

As replicatas componentes do ponto central (PC) do bioensaio da biodegradabilidade anaeróbia foram realizadas em condições operacionais similares às utilizadas para os Reatores 1 e 2, durante a fase 10: concentração de lodo inoculado igual a 2,0 g SVT/L_{reação}; DQO afluente de 1,135 g O₂/L_{reação} (para a fase 10, a COV, parâmetro equivalente à DQO afluente, para sistemas em bateladas sequenciais, foi 1,0 g O₂/L_{reação}.d); relação A/M igual a 0,57 g DQO/g SVT (para os Reatores 1 e 2, considerando apenas um ciclo diário de batelada, a relação A/M foi de, aproximadamente, 0,5 g DQO/g SVT); incubação na faixa mesofílica de temperatura; utilização de lixiviado como único substrato. A principal diferença foi o regime de operação, isto é, batelada, para o bioensaio, e bateladas sequenciais, para os reatores de bancada.

Para o bioensaio para a determinação da biodegradabilidade anaeróbia, a eficiência de remoção da DQO foi calculada a partir de amostras filtradas de efluente. Por isso, os resultados para o bioensaio foram comparados aos determinados para as amostras filtradas de efluente dos Reatores 1 e 2. Em relação

à biodegradabilidade anaeróbia para os frascos inoculados com o Lodo 1, o mesmo utilizado no Reator 1, a média de eficiência de remoção da DQO filtrada, para o PC, foi -14,2%, após 28 dias de monitoramento. Por outro lado, para o Reator 1 e para a fase 10, a eficiência média de remoção da DQO filtrada foi de 12,9%. Para o bioensaio realizado com a inoculação do Lodo 2, para o PC, a eficiência média de remoção da DQO filtrada foi -9,7%, depois de 28 dias. Para a fase 10 e Reator 2, inoculado com o Lodo 2, a eficiência média de remoção da DQO filtrada foi 12,9%.

A eficiência média de remoção da DQO pelos sistemas associados aos Reatores 1 e 2 durante a fase 10 foi significativamente maior que a obtida para o bioensaio, em que os mesmos lodos foram inoculados e cujas condições operacionais foram similares, conforme resultados para o teste t , em nível de confiança de 95%. Uma possibilidade para explicar os maiores valores da eficiência de remoção da DQO, observados para os reatores de bancada em comparação aos obtidos para o bioensaio, é o regime de operação ao qual estavam submetidos. A operação em bateladas sequenciais, realizada para os Reatores 1 e 2, pode ter sido vantajosa para a aclimação dos lodos e para a obtenção de melhor desempenho na degradação da matéria orgânica do lixiviado.

Em comparação à batelada, um sistema operado em bateladas sequenciais está menos sujeito à sobrecarga ou à exposição abrupta a interferentes, para as mesmas condições ambientais. Além disso, nesta pesquisa, para o bioensaio, o lixiviado foi alimentado uma única vez, no início da batelada. Por outro lado, para os reatores de bancada, foi realizada a alimentação diária. Como o lixiviado utilizado estava recalcitrante, para o regime em batelada, a limitada quantidade de matéria orgânica biodegradável desta água residuária pode ter sido rapidamente consumida, sem ser reposta. No entanto, para as bateladas sequenciais, realizadas para os Reatores 1 e 2, a reposição diária do substrato poderia introduzir quantidade adicional de matéria orgânica, o que favoreceria, por vez, a manutenção da atividade microbiana. Assim, sugere-se que o regime em bateladas sequenciais seja viável para a aclimação da microbiota a substratos recalcitrantes, como o lixiviado.

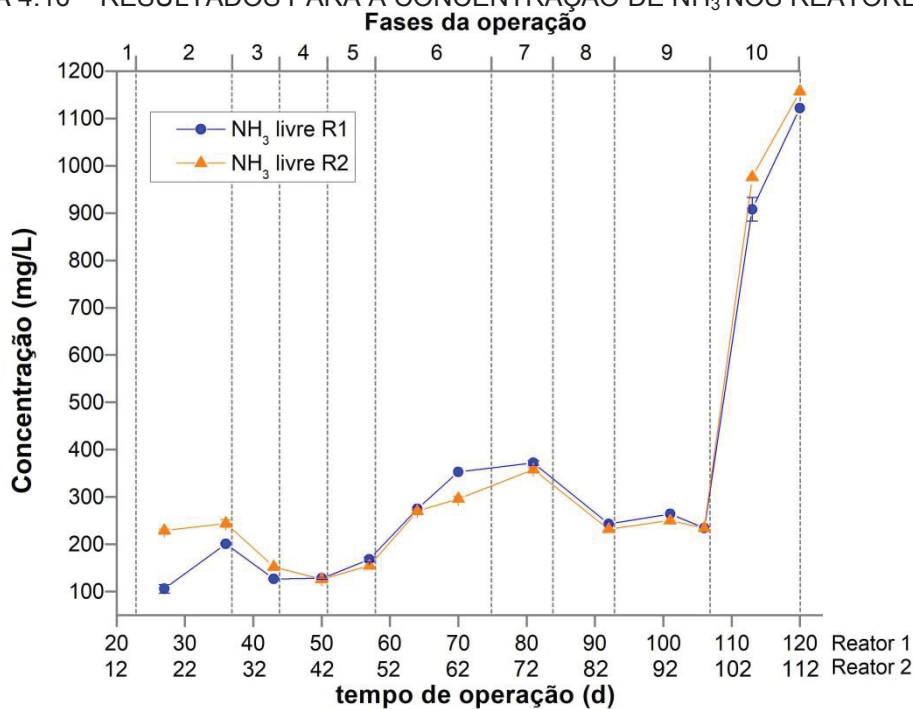
Outro resultado observado durante a fase 10 foi a provável inibição microbiana ao final da operação, o que sugere que o lixiviado puro exerceu efeito tóxico à microbiota dos dois reatores, em curto prazo. Segundo Contrera e colaboradores (2015), é possível estimar, por meio da relação AVT/DQO, a máxima concentração da DQO do lixiviado que pode ser degradada anaerobicamente. Para

o lixiviado alimentado aos reatores durante a fase 10, a relação AVT/DQO era 0,18, isto é, aproximadamente 18% da DQO total do lixiviado seria atribuída a ácidos orgânicos facilmente assimiláveis, e 18% seria também o valor máximo provável para a eficiência de remoção da DQO deste lixiviado por um sistema anaeróbio. De fato, para a primeira avaliação da remoção da DQO, realizada no 5º dia da fase 10, a eficiência média foi 19,2%, para o Reator 1, e 16,1%, para o Reator 2, resultados que sugerem que a microbiota de ambos os sistemas estaria degradando frações da matéria orgânica do lixiviado próximas à máxima possível, naquele momento.

No entanto, depois de apenas 9 dias da determinação do primeiro resultado para a eficiência de remoção da DQO pelos sistemas anaeróbios (14 dias após o início da operação da fase 10), os valores para este parâmetro haviam diminuído consideravelmente, sendo iguais a 2,6%, para o Reator 1, e 0,7%, para o Reator 2. Esta rápida diminuição da eficiência de remoção da DQO foi atribuída, principalmente, à inibição da microbiota, provavelmente devida à elevada concentração de NH_3 presente nos reatores durante a fase 10.

Na FIGURA 4.16 são apresentados os resultados para a concentração de NH_3 efluente dos Reatores 1 e 2, em função das fases de operação.

FIGURA 4.16 – RESULTADOS PARA A CONCENTRAÇÃO DE NH_3 NOS REATORES 1 E 2



FONTE: a autora (2020)

NOTA: R1: Reator 1; R2: Reator 2

É possível observar, a partir dos resultados apresentados na FIGURA 4.16, que a concentração de NH_3 livre, para os Reatores 1 e 2, variou entre 100 mg/L (fase 1) e 1.150 mg/L (fase 10). Durante a fase 6, foram obtidas algumas das maiores eficiências médias de remoção da DQO observadas ao longo desta pesquisa, 42,2%, para o Reator 1, e 30,1%, para o Reator 2. Nesta mesma fase, a média para a concentração de NH_3 efluente foi de 314 mg NH_3 /L, para o Reator 1, e 283 mg NH_3 /L, para o Reator 2. Estes resultados sugerem que, para estas concentrações de NH_3 livre, de aproximadamente 300 mg/L, não houve redução da eficiência dos sistemas anaeróbios. Isso indica, por sua vez, que ocorreu a aclimação da microbiota dos Reatores 1 e 2 a estas condições ambientais.

Por outro lado, como pode ser observado a partir dos dados apresentados na FIGURA 4.16, durante a fase 10, ocorreu o aumento significativo da concentração de NH_3 efluente, com resultados médios de 1.015 mg NH_3 /L, para o Reator 1, e 1.067 mg NH_3 /L, para o Reator 2. Essas elevadas concentrações de NH_3 no efluente dos Reatores 1 e 2 estiveram associadas principalmente ao pH do meio reacional. Para esta fase, o valor médio do pH do efluente de ambos os reatores foi de aproximadamente 8,9, mais elevado que o observado para as fases anteriores, cuja média foi 8,5. Assim, em função deste pH básico e da elevada concentração de NAT do lixiviado puro utilizado como substrato na fase 10, a NH_3 passou a predominar em relação ao íon NH_4^+ .

A contínua redução na eficiência de remoção da DQO para a fase 10 pode ser atribuída principalmente à inibição da microbiota de ambos os sistemas pela NH_3 . Embora a aclimação da microbiota anaeróbia a elevadas concentrações de NH_3 , na ordem de 1.000 mg/L, já tenha sido reportada (TIAN et al., 2018), este processo de adaptação não foi observado nesta pesquisa, durante o período avaliado para a fase 10.

Além da eficiência em função das fases de operação, foram também avaliados parâmetros relativos à estabilidade dos sistemas anaeróbios associados aos Reatores 1 e 2. Os resultados são apresentados a seguir.

4.4.2 Resultados para a estabilidade dos sistemas anaeróbios

Ao longo da operação dos reatores de bancada, foram monitorados o pH e as relações entre as alcalinidades intermediária e parcial (AI/AP) e entre a

alcalinidade total e a acidez volátil total (AT/AVT). Os resultados são apresentados na FIGURA 4.17, para o Reator 1, e na FIGURA 4.18, para o Reator 2.

FIGURA 4.17 – RESULTADOS PARA O pH, AI/AP E AT/AVT PARA O REATOR 1

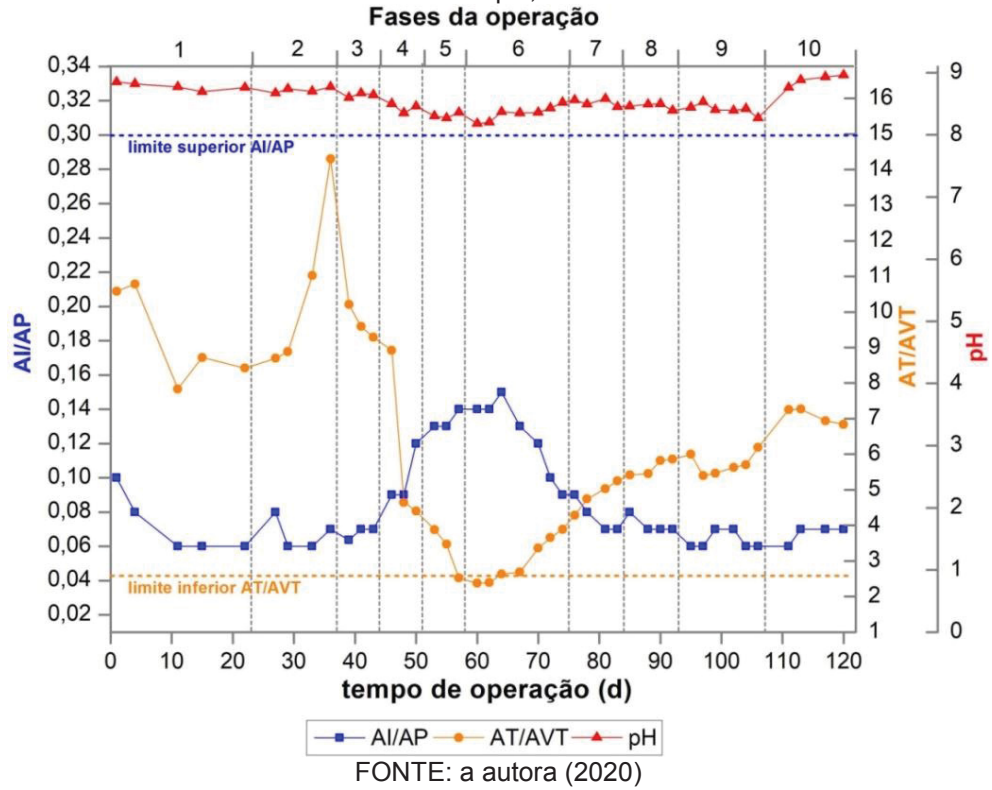
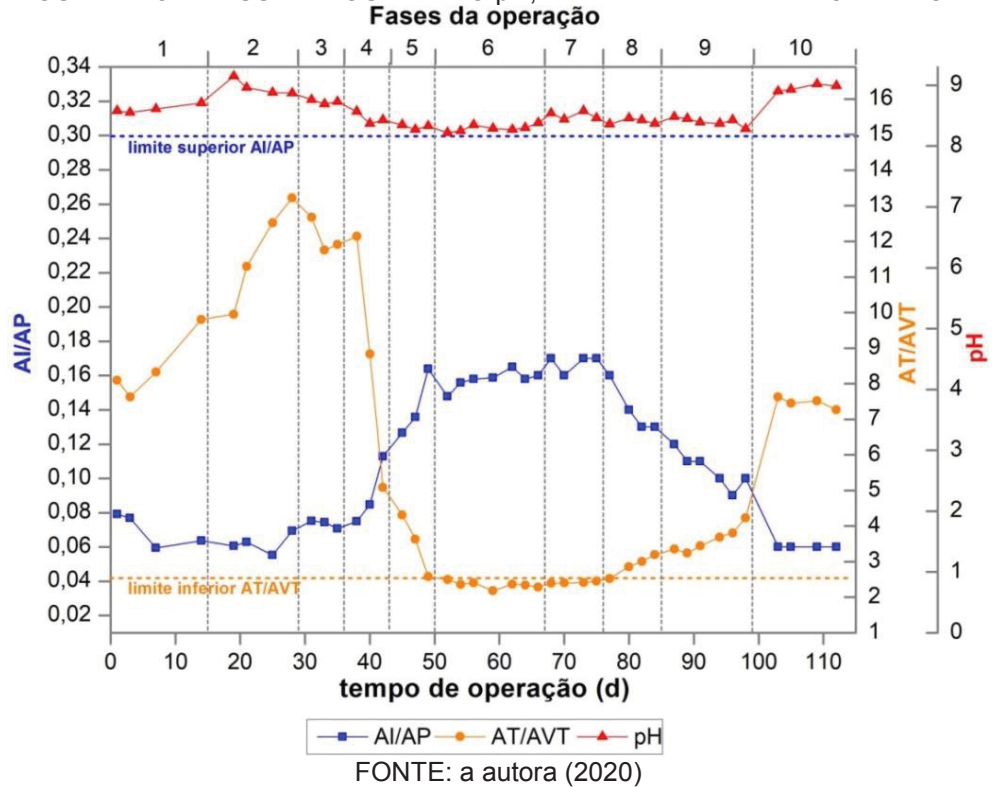


FIGURA 4.18 – RESULTADOS PARA O pH, AI/AP E AT/AVT PARA O REATOR 2



Em relação aos resultados obtidos para a AT/AVT dos Reatores 1 e 2, é possível observar, a partir dos dados apresentados nas FIGURAS 4.17 e 4.18, que houve o aumento desta relação entre as duas primeiras fases, com valores aproximados de 7, para a fase 1, e de 14, para a fase 2. Porém, os valores diminuíram abruptamente entre as fases 3 e 4, tendo sido obtidos resultados aproximados para a relação AT/AVT de 3, ao final da fase 4, para os Reatores 1 e 2. Esta redução da AT/AVT foi devida à suplementação do lixiviado com glicose, entre as fases 3 e 9, o que provavelmente estimulou a produção de ácidos orgânicos, avaliados conjuntamente como AVT, pelos micro-organismos acidogênicos.

Segundo Zickefoose e Hayes (1976), para valores de AT/AVT superiores a 2,5, o sistema anaeróbio pode ser considerado estável e favorável para o crescimento da microbiota metanogênica. Por outro lado, valores inferiores podem indicar que há o desequilíbrio das populações microbianas de um sistema, com o acúmulo de ácidos orgânicos de cadeia curta no meio reacional, que pode, inclusive, levar a falhas do processo anaeróbio.

Para o Reator 1, os valores mínimos para a relação AT/AVT foram atingidos durante as fases 5 e 6. Inclusive, para estas fases, três amostras apresentaram valores inferiores a 2,5, conforme apresentado na FIGURA 4.17, sendo este o limite recomendável para a manutenção da estabilidade de um sistema anaeróbio (ZICKEFOOSE; HAYES, 1976). O não atendimento ao critério mínimo para a estabilidade ($AT/AVT > 2,5$) foi observado para o Reator 1 durante aproximadamente 10 dias, o que sugere que, neste período, ocorreu o acúmulo de ácidos orgânicos no meio reacional. Porém, ainda durante a fase 6, o sistema associado ao Reator 1 recuperou a estabilidade, e foram obtidos valores para a relação AT/AVT superiores a 2,5, até o final da operação, condição provavelmente associada ao aumento da atividade dos micro-organismos sintróficos e metanogênicos.

Para o Reator 2, foram identificados resultados para a relação AT/AVT inferiores ao limite de 2,5 durante as fases 5, 6 e 7, como pode ser observado a partir dos dados apresentados na FIGURA 4.18. Isso indica que, para o Reator 2, a instabilidade do sistema associado se estendeu por aproximadamente 25 dias, período maior que o observado para a instabilidade do Reator 1, 10 dias. Este resultado está de acordo aos obtidos para a concentração da AVT, previamente apresentados, cujos valores foram significativamente maiores para o Reator 2 durante as fases 6, 7, 8 e 9, sugerindo que o sistema associado foi mais suscetível

ao acúmulo de ácidos orgânicos do que o Reator 1. A partir da fase 8, o sistema associado ao Reator 2 apresentou valores da relação AT/AVT superiores a 2,5, condição observada até o final da operação.

Apesar de terem sido observados valores inferiores ao limite para a relação AT/AVT (2,5) para os Reatores 1 e 2, o que indica que os dois sistemas apresentaram períodos de instabilidade, nenhuma intervenção foi necessária, como, por exemplo, a adição de fontes de alcalinidade para correção da AVT. Os dois sistemas recuperaram a estabilidade após 10 dias (Reator 1) e 25 dias (Reator 2), decorridos do início da observação dos valores inferiores a 2,5 para a relação AT/AVT. Isso pode ser parcialmente atribuído à capacidade tamponante do lixiviado, que apresentou elevada concentração da AT. A mesma observação foi apresentada por Rocha (2011). Embora o lixiviado não tenha contribuído expressivamente como fonte de carbono biodegradável, o tamponamento dos sistemas, propiciado por esta água residuária, pode ter auxiliado na recuperação da estabilidade deles.

A relação AI/AP foi proposta como alternativa à AT/AVT para avaliar a estabilidade de um sistema anaeróbio, e o limite superior crítico é de 0,3 (RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986), ou seja, sistemas anaeróbios cuja relação AI/AP ultrapasse o valor de 0,3 podem ser considerados instáveis e sujeitos à inibição. Como pode ser observado a partir dos resultados apresentados nas FIGURAS 4.17 e 4.18, os valores para a relação AI/AP para os Reatores 1 e 2 não excederam o valor limite de 0,3, para nenhuma amostra. Isso sugere que a relação AI/AP possa ser um parâmetro menos sensível para a identificação da instabilidade de sistemas anaeróbios, em comparação à relação AT/AVT.

Ainda assim, os resultados para a relação AI/AP possibilitaram a comparação entre os sistemas anaeróbios quanto à produção e acúmulo de ácidos orgânicos. Para o Reator 1, os valores máximos para a relação AI/AP variaram entre 0,12 e 0,15, e foram observados durante as fases 5 e 6. Contudo, para o Reator 2, a relação AI/AP se manteve mais elevada por um período maior, com variação entre 0,12 e 0,17, comportamento observado durante as fases 5, 6, 7 e 8. Estas observações estão de acordo com os resultados obtidos para a relação AT/AVT, isto é, o sistema associado ao Reator 2 foi mais suscetível que o do Reator 1 ao acúmulo de ácidos orgânicos, cujas concentrações foram estimadas por meio da AI.

O pH do efluente dos dois reatores também foi monitorado em função das diferentes fases de operação. Conforme dados apresentados nas FIGURAS 4.17 e

4.18, o pH variou entre 8,0 e 9,0, para ambos os reatores e ao longo de todo o período avaliado (120 dias, para o Reator 1; 112 dias, para o Reator 2). Apesar de terem sido observadas períodos em que a concentração da AVT foi elevada e o limite inferior da relação AT/AVT foi excedido, sugerindo o acúmulo de ácidos orgânicos nos dois reatores, o pH não variou de forma significativa, o que o torna um parâmetro que oferece uma resposta tardia para o monitoramento da estabilidade de sistemas anaeróbios.

Além do mais, os resultados para o pH do efluente dos reatores não apresentaram correlação com a eficiência dos sistemas anaeróbios. Ao longo das 10 fases de operação, a eficiência de remoção da DQO variou entre -26,2% e 48,7%, para o Reator 1, e entre -70,9% e 30,1%, para o Reator 2. Entretanto, o pH, para os dois reatores, variou entre 8,0 e 9,0. Estes resultados sugerem que a variação do pH não afetou significativamente a aclimação da microbiota dos sistemas sob avaliação. Outros autores obtiveram resultados similares: ao utilizar lixiviado de aterro sanitário como substrato para o processo anaeróbio, foram obtidas eficiências de remoção da DQO próximas a 70%, para pH entre 8,0 e 9,0 (MORAIS, 2016; ROCHA; BRAGA; BRAGA, 2017).

Para a fase 10, foram obtidos os maiores valores para o pH, para ambos os reatores, com média próxima a 9,0. Nesta mesma fase, foi observada a diminuição significativa da eficiência da remoção da DQO, para os dois sistemas anaeróbios, com resultados médios de 2,6%, para o Reator 1, e 0,7%, para o Reator 2, depois de 14 dias do início da operação desta fase. Contudo, a inibição da microbiota dos dois sistemas, observada durante a etapa final da operação, provavelmente não esteve diretamente relacionada ao pH, mas sim à elevada concentração de NH_3 , aproximadamente 1.100 mg/L, esta sim consideravelmente maior em função do pH mais básico observado durante a fase 10.

Em síntese, a partir do monitoramento de parâmetros químicos, foi possível observar a aclimação da microbiota à maioria das condições operacionais e ambientais associadas ao lixiviado de aterro sanitário, avaliadas ao longo da operação dos Reatores 1 e 2. Finalmente, sugere-se que estudos futuros investiguem como distintas condições operacionais e ambientais afetam populações microbianas específicas, o que pode ser realizado mediante monitoramento de parâmetros microbiológicos e análises moleculares.

4.5 RESULTADOS PARA OS LODOS DOS REATORES 1 E 2

Além do monitoramento dos sistemas anaeróbios ao longo de 120 dias, para o Reator 1, e 112 dias, para o Reator 2, foram avaliados parâmetros relativos aos lodos inoculados nestes reatores, apresentados a seguir.

4.5.1 Série de sólidos para os lodos dos Reatores 1 e 2

Ao longo da operação dos reatores de bancada, foram retiradas alíquotas dos lodos anaeróbios inoculados para determinar, em função das condições ambientais e operacionais, as concentrações de sólidos totais (ST), voláteis totais (SVT) e fixos totais (SFT).

Nas FIGURAS 4.19 e 4.20 são apresentados os resultados para a série de sólidos dos lodos dos Reatores 1 e 2, respectivamente. Os valores médios e os desvios-padrões para cada amostra foram calculados a partir de duplicatas.

FIGURA 4.19 – RESULTADOS PARA A SÉRIE DE SÓLIDOS DO LODO DO REATOR 1

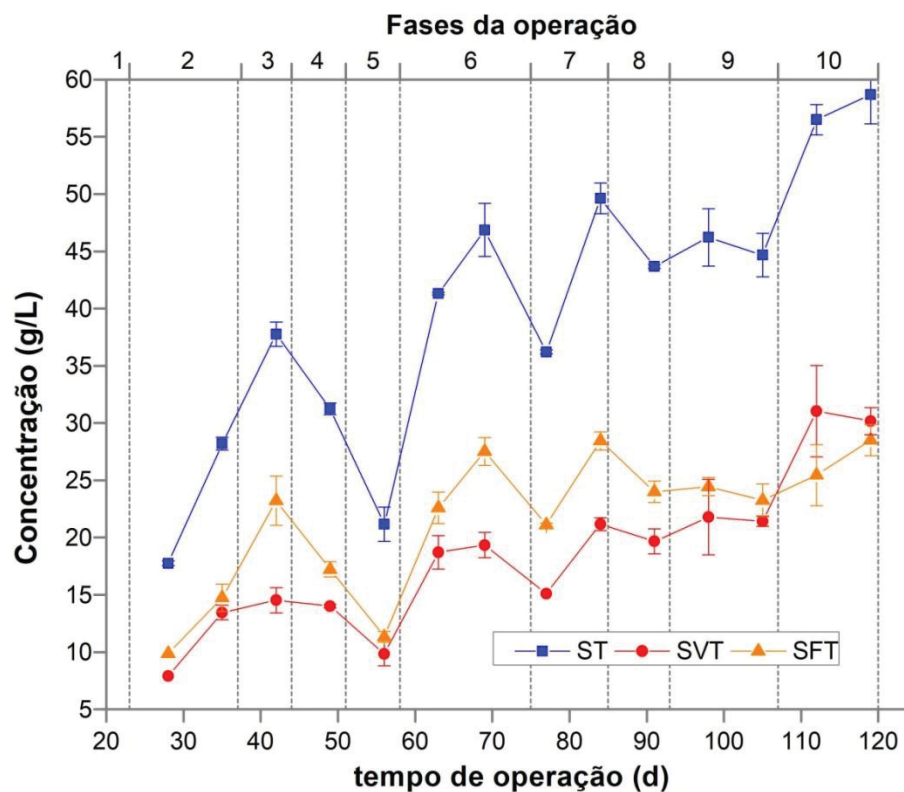
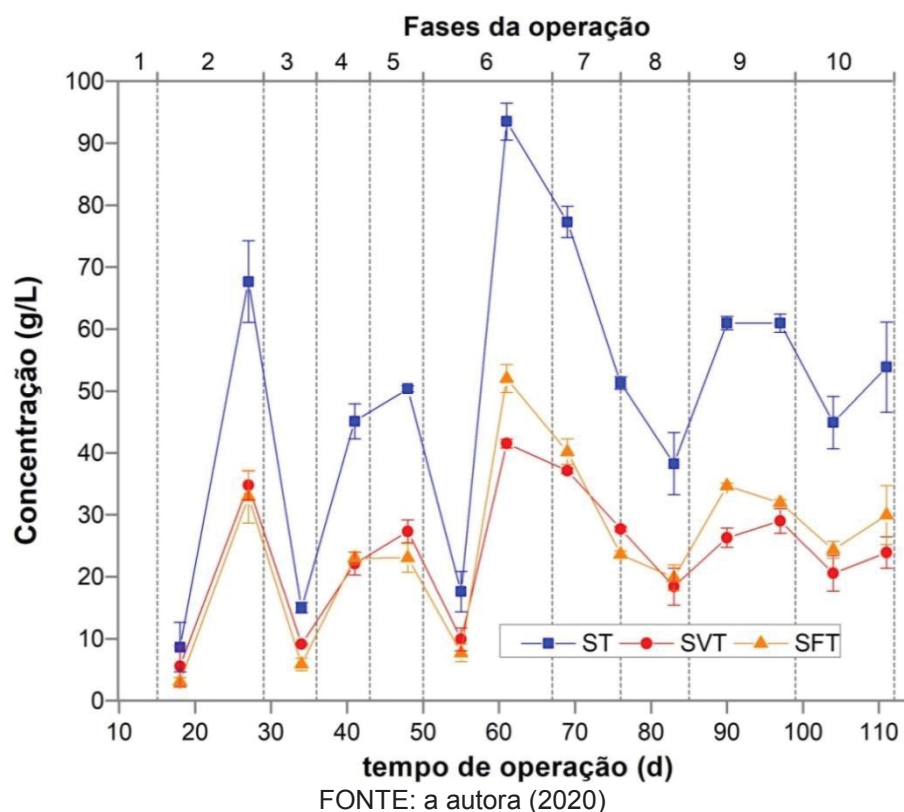


FIGURA 4.20 – RESULTADOS PARA A SÉRIE DE SÓLIDOS DO LODO DO REATOR 2



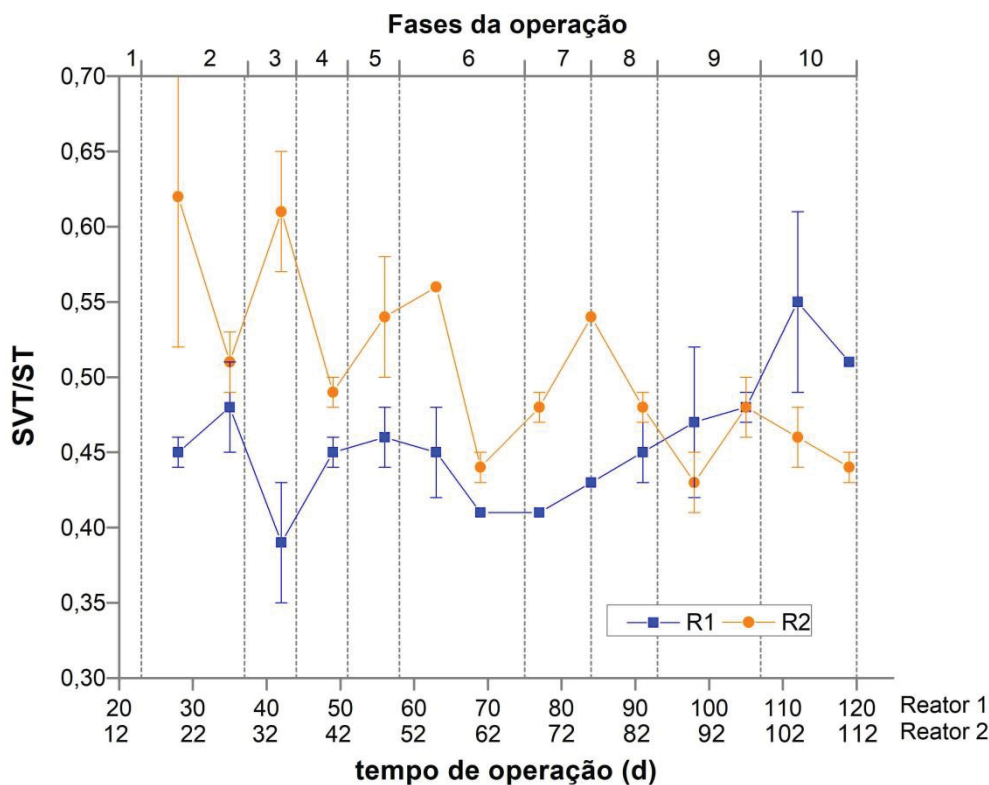
A partir dos dados apresentados nas FIGURAS 4.19 e 4.20, é possível observar que as concentrações de ST, SVT e SFT apresentaram variabilidade ao longo da operação, para os lodos de ambos os reatores. Para os ST, as concentrações variaram entre 18 a 59 g/L, para o Reator 1, e entre 9 a 93 g/L, para o Reator 2. Para os SVT, a variação foi de 8 a 31 g/L, para o Reator 1, e de 6 a 37 g/L, para o Reator 2. Para os SFT, as concentrações variaram entre 10 a 28 g/L, para o Reator 1, e entre 3 a 40 g/L, para o Reator 2. Entretanto, para os dois reatores, os ST, SVT e SFT apresentaram a mesma tendência ao longo de toda a operação, isto é, quando havia aumento ou diminuição da concentração de um deles, os outros dois apresentavam o mesmo comportamento.

A variabilidade observada para a série de sólidos dos lodos de ambos os reatores ao longo da operação pode ser atribuída ao processo de amostragem. Os reatores eram agitados manualmente, após a alimentação. Porém, foi observado que ao sedimentarem novamente, após a agitação, os lodos acumulavam de forma desigual no fundo dos frascos. Ao realizar a retirada das alíquotas para a determinação da concentração de sólidos, foi observado, inclusive, que parte do sobrenadante era removida juntamente com os lodos em algumas amostragens, o

que pode ter levado à subestimativa das concentrações de sólidos para as análises correspondentes. Em função destas observações e da variabilidade dos valores das concentrações absolutas para a série de sólidos, foi determinada, para os lodos dos Reatores 1 e 2, a relação entre os sólidos voláteis totais e os sólidos totais (SVT/ST). Este é um parâmetro comumente utilizado para a avaliação de lodos anaeróbios, e está menos sujeito a erros analíticos associados ao processo de amostragem em comparação às concentrações absolutas.

Os resultados para as relações SVT/ST dos lodos dos dois reatores são apresentados conjuntamente na FIGURA 4.21. Os desvios-padrões, calculados a partir dos valores de duplicatas, são apresentados como barras de erros.

FIGURA 4.21 – RESULTADOS PARA A RELAÇÃO SVT/ST DOS LODOS DOS REATORES 1 E 2



FONTE: a autora (2020)

NOTA: R1: Reator 1; R2: Reator 2

Visando avaliar se houve diferenças significativas entre os resultados da relação SVT/ST em função das condições de operação, foi realizada, para cada reator, a comparação entre os valores médios para a relação SVT/ST obtidos para cada fase. Para tal, foi utilizada a técnica estatística ANOVA de fator único, associada ao teste de Bonferroni. O nível de confiança estabelecido foi de 95%.

Para o lodo inoculado no Reator 1, as únicas diferenças significativas para a relação SVT/ST estão entre as fases de operação 3 e 10, 6 e 10, 7 e 10, em nível de confiança de 95%. Os resultados apresentados na FIGURA 4.21 permitem observar que a relação SVT/ST média para a fase 3 (0,39) foi a menor determinada para o Reator 1 ao longo dos 120 dias de operação. Por outro lado, durante a fase 10, foi obtido o maior valor médio para a mesma relação (SVT/ST = 0,54). Esta amplitude entre os valores médios da relação SVT/ST para as fases 3 e 10 explica, portanto, a significativa diferença estatística, pois mesmo ao serem considerados os erros analíticos e os desvios-padrões, não se pode, neste caso, rejeitar a hipótese que as médias sejam diferentes, para o nível de confiança de 95%. O mesmo pode ser considerado para a diferença entre as fases 6 e 10 (SVT/ST = 0,43 e 0,54, respectivamente) e entre as fases 7 e 10 (SVT/ST = 0,42 e 0,54, respectivamente).

É relevante ressaltar que, para o lodo do Reator 1, com exceção das fases 3 e 10, 6 e 10, 7 e 10, não houve diferença significativa entre os resultados para a relação SVT/ST em função das condições operacionais. Contudo, foram obtidas, para as diferentes fases de operação, eficiências de remoção da DQO total que variaram entre -26,2% a 48,7%. Estes resultados sugerem que a relação SVT/ST não se correlacionou com a eficiência do processo anaeróbio e, conseqüentemente, com o comportamento da microbiota do Lodo 1.

Ademais, o maior valor para a relação SVT/ST (0,54) para o lodo do Reator 1 foi obtido durante a fase 10. Entretanto, nesta fase, lixiviado puro foi alimentado aos reatores, e a eficiência média de remoção da DQO total foi de 9,0%, valor significativamente menor que o obtido para a fase anterior, para a qual a eficiência média de remoção da DQO total, 48,7%, foi a máxima observada para o Reator 1. Isso sugere que, além de ser um parâmetro inespecífico para a avaliação da microbiota anaeróbia, a relação SVT/ST pode oferecer uma resposta tardia sobre a eficiência do processo anaeróbio e sobre a concentração microbiana de um lodo.

A mesma análise comparativa foi realizada para as médias da relação SVT/ST obtidas para as diferentes fases de operação do Reator 2. Em nível de confiança de 95%, não há diferença estatisticamente significativa entre os resultados da relação SVT/ST para diferentes fases de operação do Reator 2, com exceção das fases 3 e 10. A diferença entre as fases 3 e 10 pode ser justificada porque, para a primeira, foi obtido o maior valor da relação SVT/ST do lodo do Reator 2, 0,61, enquanto para a décima fase, foi determinado o menor valor, 0,45.

Para o Reator 2, durante os 112 dias de operação, a eficiência de remoção da DQO total variou entre -70,9% a 30,1%. Contudo, conforme apresentado anteriormente, quando considerada a relação SVT/ST para o lodo inoculado no Reator 2, não há diferença significativa entre os resultados obtidos para nenhuma fase, com exceção das fases 3 e 10. Este resultado reforça a observação apresentada para o Lodo 1, isto é, a relação SVT/ST não se correlacionou com a eficiência de remoção da DQO por nenhum dos sistemas anaeróbios avaliados. Portanto, não se mostrou como parâmetro adequado, nesta pesquisa, para a avaliação do comportamento da microbiota anaeróbia.

Além do mais, foi observado, neste estudo, que a relação SVT/ST pode apresentar limitações quando utilizada para a comparação de lodos anaeróbios de origens diferentes. Nesta pesquisa, por exemplo, foram comparadas as médias das relações SVT/ST entre os Reatores 1 e 2, inoculados com lodos de origens diferentes. A significância estatística da diferença entre as médias foi também avaliada, por meio do teste *t*, para nível de confiança de 95%. Os resultados são apresentados no QUADRO 4.9.

QUADRO 4.9 – RESULTADOS PARA A RELAÇÃO SVT/ST DOS LODOS DOS REATORES 1 E 2

Fase de operação	SVT/ST lodo do Reator 1 ± d. p.	SVT/ST lodo do Reator 2 ± d. p.	Há diferença significativa entre a relação SVT/ST para os Reatores 1 e 2?	Há diferença significativa entre a eficiência para os Reatores 1 e 2?
2	0,46 ± 0,02	0,56 ± 0,07	não	não
3	0,38 ± 0,03	0,61 ± 0,04	sim	n. d.
4	0,45 ± 0,01	0,49 ± 0,01	não	n. d.
5	0,46 ± 0,02	0,54 ± 0,04	não	n. d.
6	0,43 ± 0,03	0,50 ± 0,08	não	sim
7	0,42 ± 0,00	0,48 ± 0,01	sim	sim
8	0,44 ± 0,01	0,51 ± 0,04	não	sim
9	0,48 ± 0,01	0,46 ± 0,04	não	sim
10	0,54 ± 0,04	0,45 ± 0,01	não	não

FONTE: a autora (2020)

NOTA: d. p.: desvio-padrão; n. d.: não determinado; eficiência determinada como percentagem de remoção da DQO total

Como pode ser observado em função dos dados apresentados no QUADRO 4.9, com exceção das fases de operação 3 e 7, os resultados médios para a relação SVT/ST não foram significativamente diferentes entre os Reatores 1 e 2. No entanto, conforme apresentado na Seção 4.4.1 e no QUADRO 4.9, a eficiência de remoção da DQO total, parâmetro representativo do desempenho de um sistema anaeróbio,

foi significativamente diferente entre os dois reatores para as fases 1, 6, 7, 8 e 9. Deve ser observado que as fases 3, 4 e 5 não foram consideradas na comparação entre a eficiência para os dois reatores.

Para a fase 7, por exemplo, a relação SVT/ST para o lodo do Reator 2 foi de 0,48, valor significativamente maior que para o Reator 1, 0,42, em nível de confiança de 95%. No entanto, a eficiência de remoção da DQO total para essa mesma fase foi significativamente maior para o Reator 1 (30,7%) em relação ao Reator 2 (6,5%). Por outro lado, para a fase 9, as médias para a relação SVT/ST entre os dois reatores não podem ser consideradas estatisticamente diferentes entre si, para um nível de confiança de 95%. Contudo, as eficiências médias de remoção da DQO total para a nona fase foram de 48,7%, para o Reator 1, e 28,8%, para o Reator 2, valores que podem ser considerados diferentes entre si, para o mesmo nível de confiança. Logo, a relação SVT/ST não se correlacionou, neste estudo, com o desempenho da microbiota relativo à remoção da DQO, e não permitiu detectar adequadamente as diferenças existentes entre os lodos dos dois reatores, provenientes de origens distintas.

Visando complementar os resultados obtidos para a série de sólidos e aprofundar a investigação sobre a microbiota dos lodos inoculados nos dois reatores, foram realizadas análises de microscopia óptica e de varredura.

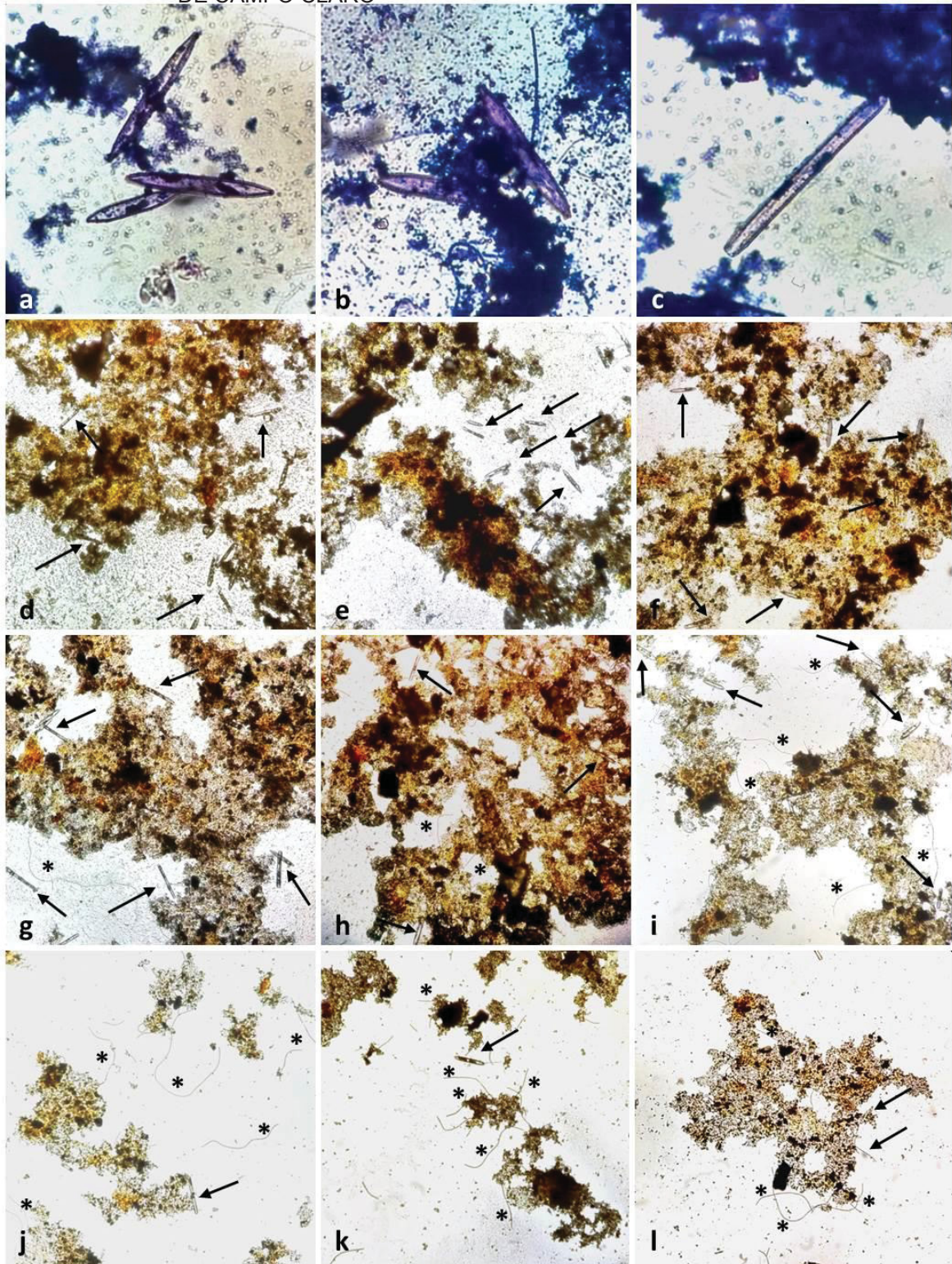
4.5.2 Análises de microscopia dos lodos dos reatores de bancada

A seguir são apresentados os resultados das microscopias óptica de campo claro e de fluorescência e eletrônica de varredura, realizadas nas amostras dos lodos dos Reatores 1 e 2.

4.5.2.1 Resultados para a microscopia óptica de campo claro

Na FIGURA 4.22 são apresentadas as fotomicrografias relacionadas à microscopia óptica de campo claro para o Reator 1, inoculado com lodo de lagoa facultativa do sistema de tratamento de lixiviado do Aterro Municipal de Curitiba.

FIGURA 4.22 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 1 – MICROSCOPIA ÓPTICA DE CAMPO CLARO



FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: **a, b e c:** lodo do Reator 1, 29° dia de operação, fase 1; **d:** 42° dia de operação, fase 3; **e:** 49° dia de operação, fase 4; **f:** 56° dia de operação, fase 5; **g:** 63° dia de operação, fase 6; **h:** 77° dia de operação, fase 7; **i:** 91° dia de operação, fase 8; **j e k:** 98° dia e 105° dia de operação, respectivamente, fase 9; **l:** 119° dia de operação, fase 10. As setas (→) apontam para micro-organismos planctônicos; os asteriscos (*) indicam micro-organismos filamentosos. Imagens **a, b e c:** aumento de 1000x e coloração devida ao método de Gram; imagens **d a l:** aumento de 200X

Para o Reator 1, em todas as fotomicrografias (FIGURA 4.22), foi observada a presença de organismos associados ao fitoplâncton, o que indica que estiveram associados ao lodo deste reator durante toda a operação do sistema anaeróbio e, portanto, provavelmente tenham sido coletados junto com o lodo utilizado para a inoculação do reator, proveniente de lagoa facultativa. As fotomicrografias a, b e c da FIGURA 4.22 apresentam os organismos fitoplanctônicos em destaque.

Organismos associados ao fitoplâncton não ocupam nicho ecológico no processo anaeróbio, não sendo, portanto, relevantes para a conversão da matéria orgânica a biogás pelos sistemas associados. Por outro lado, estes organismos podem ter contribuído como fonte de matéria orgânica para a microbiota, o que pode exercer efeito dúbio, isto é, ao mesmo tempo que servem como fonte de alimento podem ser contabilizados como sólidos voláteis totais (SVT) do lodo, o que, por sua vez, contribui para a não especificidade dos SVT como parâmetro indicador indireto da concentração de micro-organismos relevantes para os processos biológicos.

Para a sétima fase de operação, a COV foi mantida em 0,6 g DQO/L.d, porém o TDH foi reduzido de 10 para 5 dias. Neste mesmo período, a eficiência média de redução da concentração da DQO total para o Reator 1 diminuiu de 42,2% (fase 6) para 30,7% (fase 7). Da análise de microscopia óptica do lodo do Reator 1, foi observado, a partir da fase 8 (FIGURA 4.22i), o menor tamanho de floco biológico em relação às fases anteriores. Esta redução do tamanho dos flocos biológicos do lodo do Reator 1 pode estar relacionada à mudança do TDH e à menor eficiência média de remoção da DQO total, como discutido na Seção 4.4.1.

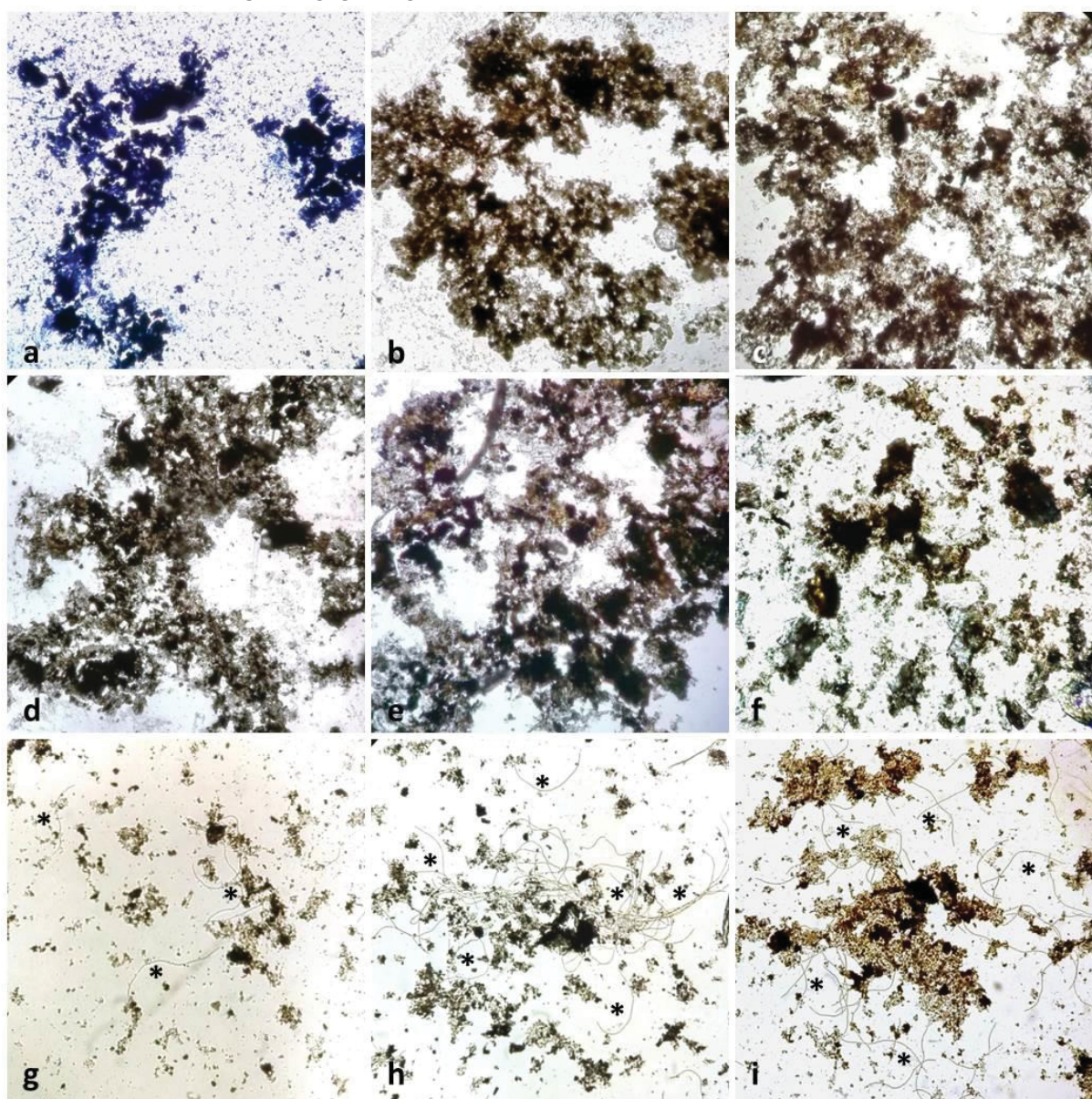
Da análise da microscopia óptica de campo claro do lodo do Reator 1, desde a primeira fase de operação, foi possível observar a presença de alguns poucos filamentos. Entretanto, como indicado pelos asteriscos nas fotomicrografias da FIGURA 4.22, foi observado maior número de filamentos no Lodo 1 a partir da fase 8. Nesta etapa, além da suplementação do lixiviado com glicose, também foi adicionada diariamente solução de fosfato aos reatores.

Este suplemento foi adicionado para que fosse obtida relação DQO/P de 200/1 para o substrato afluente aos reatores. Deve ser salientado que o lixiviado apresentava deficiência de fósforo, visto que a sua relação DQO/P era de 1.221/1, e a recomendação para a aclimação da microbiota e/ou partida do processo anaeróbio é de que a relação seja de, no máximo, 300/1 (ANNACHHATRE, 1996). Por outro lado, o fosfato adicionado pode ter estimulado a proliferação dos micro-

organismos em geral, em particular dos filamentosos, cuja presença passou a ser mais expressiva no Lodo 1 em comparação às fases sem adição do nutriente (1 a 7).

Na FIGURA 4.23 são apresentadas as fotomicrografias relacionadas à microscopia óptica de campo claro para o Reator 2, inoculado com lodo de reator UASB do sistema de tratamento de esgoto sanitário da ETE Padilha Sul.

FIGURA 4.23 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 2 – MICROSCOPIA ÓPTICA DE CAMPO CLARO



FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: **a:** lodo do Reator 2, 20° dia de operação, fase 1; **b:** 34° dia de operação, fase 3; **c:** 41° dia de operação, fase 4; **d:** 48° dia de operação, fase 5; **e:** 55° dia de operação, fase 6; **f:** 69° dia de operação, fase 7; **g:** 83° dia de operação, fase 8; **h:** 90° dia de operação, fase 9; **i:** 111° dia de operação, fase 10. Os asteriscos (*) apontam para regiões com concentração de micro-organismos filamentosos. Imagem **a:** aumento de 1000x e coloração devida ao método de Gram; imagens **b** a **i:** aumento de 200X

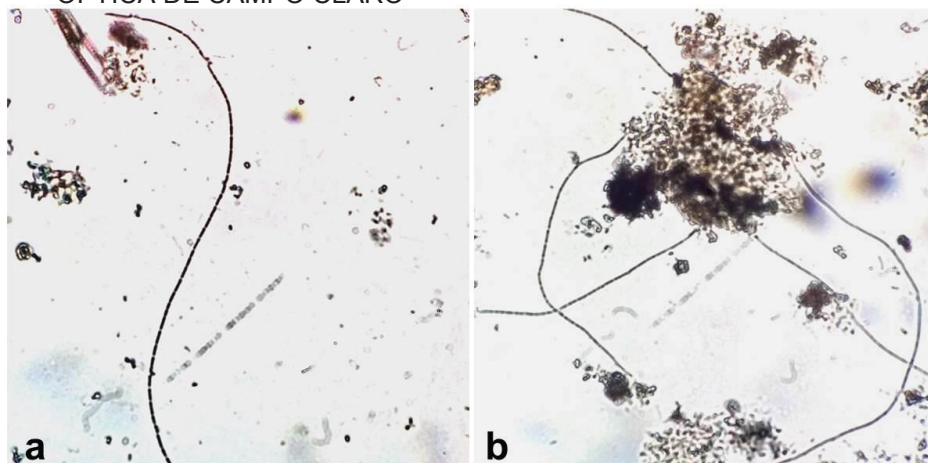
Ao comparar as fotomicrografias do Lodo 2, é possível observar que houve o aumento do tamanho do floco do biológico entre as fases 1 (FIGURA 4.23a) e 6 (FIGURA 4.23e). A partir da fase 3 de operação dos reatores de bancada, foi realizada suplementação do lixiviado de aterro sanitário com solução de glicose (10 g/L), de forma que 50% da concentração da DQO afluente correspondia ao lixiviado e 50% à glicose. Em função da facilidade de biodegradação, a glicose pode ter estimulado o metabolismo microbiano e levado ao aumento da produção de substâncias poliméricas extracelulares, levando à agregação dos flocos biológicos e/ou ao aumento da população microbiana em comparação às fases 1 e 2, quando apenas lixiviado diluído foi utilizado como substrato.

A partir da fase 7, no entanto, foi observada a diminuição do tamanho dos flocos biológicos para o Lodo 2 (FIGURA 4.23f). Nesta fase da operação, o TDH foi reduzido de 10 para 5 dias, tendo sido observada diminuição significativa da eficiência de redução da concentração DQO total em relação à fase anterior, 6, para o Reator 2 (30,1%, para a fase 6, e 6,5%, para a fase 7). Essa diminuição da eficiência pode estar relacionada à desagregação dos flocos biológicos e perda de biomassa microbiana, conforme discutido previamente na Seção 4.4.1 sobre a influência do TDH no desempenho dos sistemas anaeróbios.

Para o lodo do Reator 2, da análise da microscopia óptica de campo claro, não foi possível observar a presença de micro-organismos filamentosos para as fases de operação 1 a 7. Porém, como apontado na FIGURA 4.23 (fotomicrografias g, h e i), a partir da fase 8, coincidentemente com o início da adição de fosfato ao substrato, micro-organismos filamentosos passaram a ser observados.

Na FIGURA 4.24 são apresentadas as fotomicrografias dos lodos dos Reatores 1 e 2, com destaque para os micro-organismos filamentosos. Em sistemas anaeróbios, a presença de micro-organismos filamentosos parece estar associada à formação e manutenção da estrutura dos flocos biológicos e/ou grânulos de lodo (YAMADA et al., 2005; YAMADA et al., 2007). Em lodos de reatores UASB, por exemplo, micro-organismos filamentosos foram observados na superfície dos grânulos, formando estruturas similares a redes (YAMADA et al., 2005; YAMADA et al., 2007). Para o processo anaeróbio, há exemplos de estudos que identificaram dois filos de bactérias com representantes filamentosos: *Chloroflexi* (YAMADA et al., 2005; SUN et al., 2016) e o candidato a filo *Modulibacteria* (YAMADA et al., 2007; SEKIGUCHI et al., 2015).

FIGURA 4.24 – FOTOMICROGRAFIAS PARA OS LODOS DOS REATORES 1 E 2 – MICROSCOPIA ÓPTICA DE CAMPO CLARO



FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: a: lodo do Reator 1, 91° dia de operação; b: lodo do Reator 2, 83° dia de operação. Aumento de 1000X. Ambos os reatores encontravam-se na fase 8 de operação

Estudos de culturas puras de bactérias filamentosas isoladas de sistemas anaeróbios mostraram que esses micro-organismos têm a capacidade de fermentar diferentes tipos de carboidratos, como a glicose (SEKIGUCHI et al., 2015; SUN et al., 2016). Entretanto, os micro-organismos isolados apresentaram crescimento fastidioso, requerendo nutrientes, além de uma fonte de carbono, o que sugere que estabelecem relações metabólicas com outros micro-organismos do processo anaeróbio e que dependem de condições ambientais complexas para se desenvolverem. Estes resultados estão de acordo com os obtidos nesta pesquisa, visto que os filamentos foram observados para as fases de operação em que os reatores recebiam como afluente lixiviado, glicose (carboidrato) e fosfato (nutriente).

Sun e colaboradores (2016), ao realizarem a cocultura de isolados filamentosos do filo *Chloroflexi* com arqueas metanogênicas hidrogenotróficas, observaram o aumento na taxa de crescimento dos primeiros, concomitantemente à produção de metano pelas últimas, o que indica que os micro-organismos filamentosos podem ocupar importante nicho ecológico no processo anaeróbio, isto é, o dos sintróficos.

Apesar da importância e presença em sistemas que apresentavam elevadas eficiências de degradação da matéria orgânica, os micro-organismos filamentosos também têm sido associados a falhas do processo anaeróbio devidas ao fenômeno de inchamento dos grânulos de lodo (*bulking*). Yamada e colaboradores (2007), por exemplo, reportaram o supercrescimento de micro-organismos filamentosos em grânulos de lodo de reator UASB em escala plena, operado em condições

mesofílicas. Os grânulos cuja concentração de filamentos era elevada apresentavam baixa sedimentabilidade, flotavam e eram eliminados do reator juntamente com o efluente. O mesmo fenômeno foi observado por Li e colaboradores (2008), porém para reator UASB em escala de bancada. Em ambos os casos, o *bulking*, devido ao crescimento excessivo dos micro-organismos filamentosos nos grânulos de lodo, levou à perda da eficiência e à falha completa do sistema anaeróbio. Logo, o controle desses micro-organismos em sistemas anaeróbios e o entendimento dos fatores que levam ao seu supercrescimento são de fundamental importância para a manutenção das condições operacionais associadas ao processo anaeróbio.

Neste contexto, em que há ainda a limitada compreensão sobre a fisiologia, nicho ecológico e filogenia dos micro-organismos filamentosos associados a sistemas anaeróbios, técnicas simples, como as de microscopia óptica, podem auxiliar no monitoramento e no controle da presença destes organismos em lodos, conforme realizado nesta pesquisa.

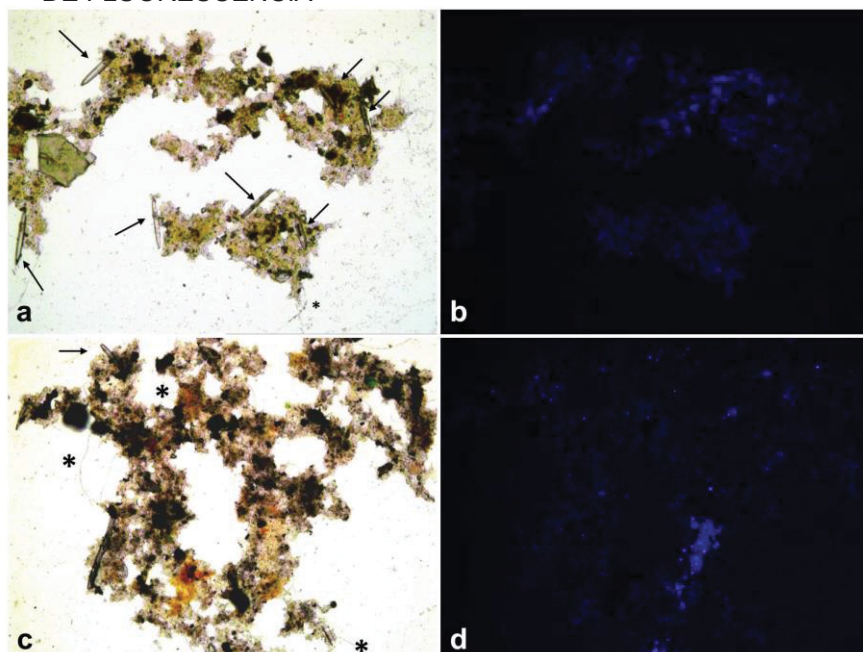
4.5.2.2 Resultados para a microscopia óptica de fluorescência

As fotomicrografias de fluorescência para os lodos dos Reatores 1 e 2 são apresentadas nas FIGURAS 4.25 e 4.26, respectivamente.

Ao comparar as fotomicrografias correspondentes ao mesmo campo visual, porém obtidas por meio de modos diferentes (microscopia óptica de campo claro e de fluorescência), é possível observar que os flocos biológicos constituintes dos dois lodos apresentaram, sob excitação por luz ultravioleta, pontos com emissão de fluorescência, distribuídos por toda a superfície dos flocos. Como as arqueas apresentam autofluorescência quando visualizadas sob as mesmas condições que as utilizadas nesta análise, é possível, portanto, relacionar os pontos luminosos obtidos nas fotomicrografias à presença de micro-organismos metanogênicos nos flocos biológicos constituintes dos lodos dos Reatores 1 e 2.

Também pode ser observado que, tanto para as fotomicrografias apresentadas na FIGURA 4.25 como para as da FIGURA 4.26, os micro-organismos filamentosos presentes nos flocos dos lodos dos Reatores 1 e 2 não apresentaram autofluorescência quando as amostras foram excitadas pela luz ultravioleta. Isso indica que, de fato, os micro-organismos filamentosos pertencem ao domínio *Bacteria*, e não *Archaea*, conforme previamente discutido.

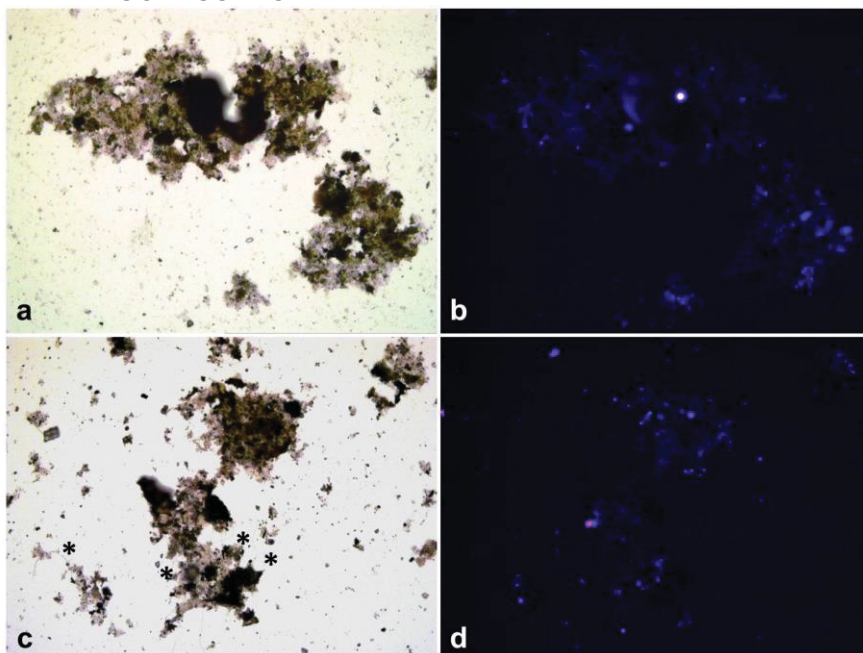
FIGURA 4.25 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 1 – MICROSCOPIA ÓPTICA DE FLUORESCÊNCIA



FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: **a e b**: mesmo campo para lodo do Reator 1 em microscopia de campo claro e de fluorescência, respectivamente, 93° dia de operação; **c e d**: mesmo campo para lodo do Reator 1 em microscopia de campo claro e de fluorescência, respectivamente, 96° dia de operação. Aumento de 200X. Setas (→) apontam para organismos fitoplantônicos; asteriscos (*) indicam micro-organismos filamentosos

FIGURA 4.26 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 2 – MICROSCOPIA ÓPTICA DE FLUORESCÊNCIA



FONTE: a autora (2020)

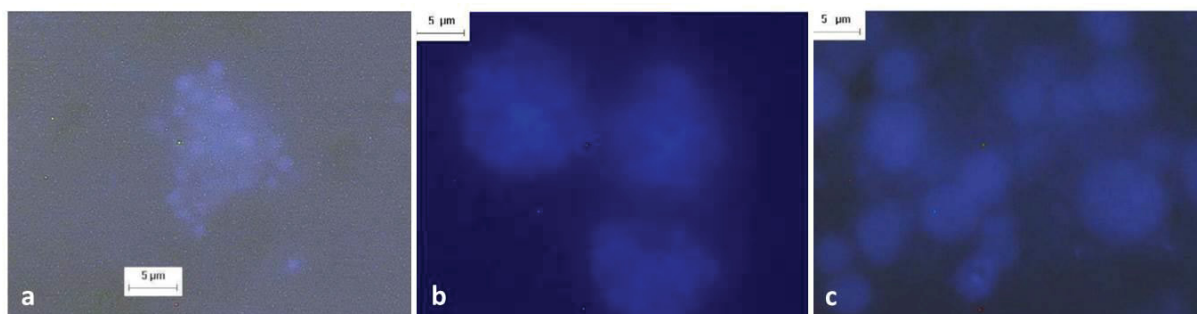
LEGENDA: **a e b**: mesmo campo para lodo do Reator 2 em microscopia de campo claro e de fluorescência, respectivamente, 85° dia de operação; **c e d**: mesmo campo para lodo do Reator 2 em microscopia de campo claro e de fluorescência, respectivamente, 88° dia de operação. Aumento de 200X. Asteriscos (*) indicam micro-organismos filamentosos

Embora existam limitações para a aplicação da microscopia óptica de fluorescência à visualização de arqueas, como a presença de interferentes que também podem emitir fluorescência na amostra, fibras vegetais, por exemplo, a técnica pode ser empregada, como nesta pesquisa, para a prospecção rápida de micro-organismos metanogênicos e metabolicamente ativos em lodos anaeróbios.

Neste trabalho, a microscopia óptica de fluorescência foi utilizada para avaliar a distribuição de possíveis micro-organismos metanogênicos nos lodos inoculados nos dois reatores durante a aclimação da microbiota ao lixiviado. Entretanto, a técnica também pode ser aplicada à análise morfológica de células individuais ou de grupos celulares, como realizado por Contrera e colaboradores (2018). Estes autores utilizaram um reator anaeróbio com biofilme em bateladas sequenciais, em escala piloto, para o tratamento de lixiviado de aterro sanitário e aplicaram a microscopia de fluorescência para identificar células que apresentavam similaridade morfológica à de arqueas metanogênicas.

Na FIGURA 4.27 são apresentadas as fotomicrografias produzidas por Contrera e colaboradores (2018). É possível observar que, além de apresentarem morfologia similar à já identificada e reportada para arqueas do gênero *Methanosarcina*, houve a emissão de autofluorescência pelas células ao serem excitadas por luz ultravioleta. Este fator leva à maior confiabilidade na identificação de arqueas metanogênicas em amostras ambientais, visto que, com exceção de poucos micro-organismos do domínio *Bacteria*, as arqueas são as únicas a apresentarem autofluorescência quando excitadas pela luz ultravioleta.

FIGURA 4.27 – FOTOMICROGRAFIAS DE LIXIVIADO E MATERIAL SUPORTE – MICROSCOPIA ÓPTICA DE FLUORESCÊNCIA



FONTE: adaptado de Contrera et al. (2018)

LEGENDA: **a:** amostra de lixiviado de aterro sanitário sob fluorescência, morfologia similar à de células metanogênicas (gênero *Methanosarcina*); **b:** amostra de lixiviado de aterro sanitário tratado por processo anaeróbio sob fluorescência, morfologia similar à de células metanogênicas; **c:** material suporte utilizado em sistema anaeróbio sob fluorescência, morfologia similar à de células metanogênicas

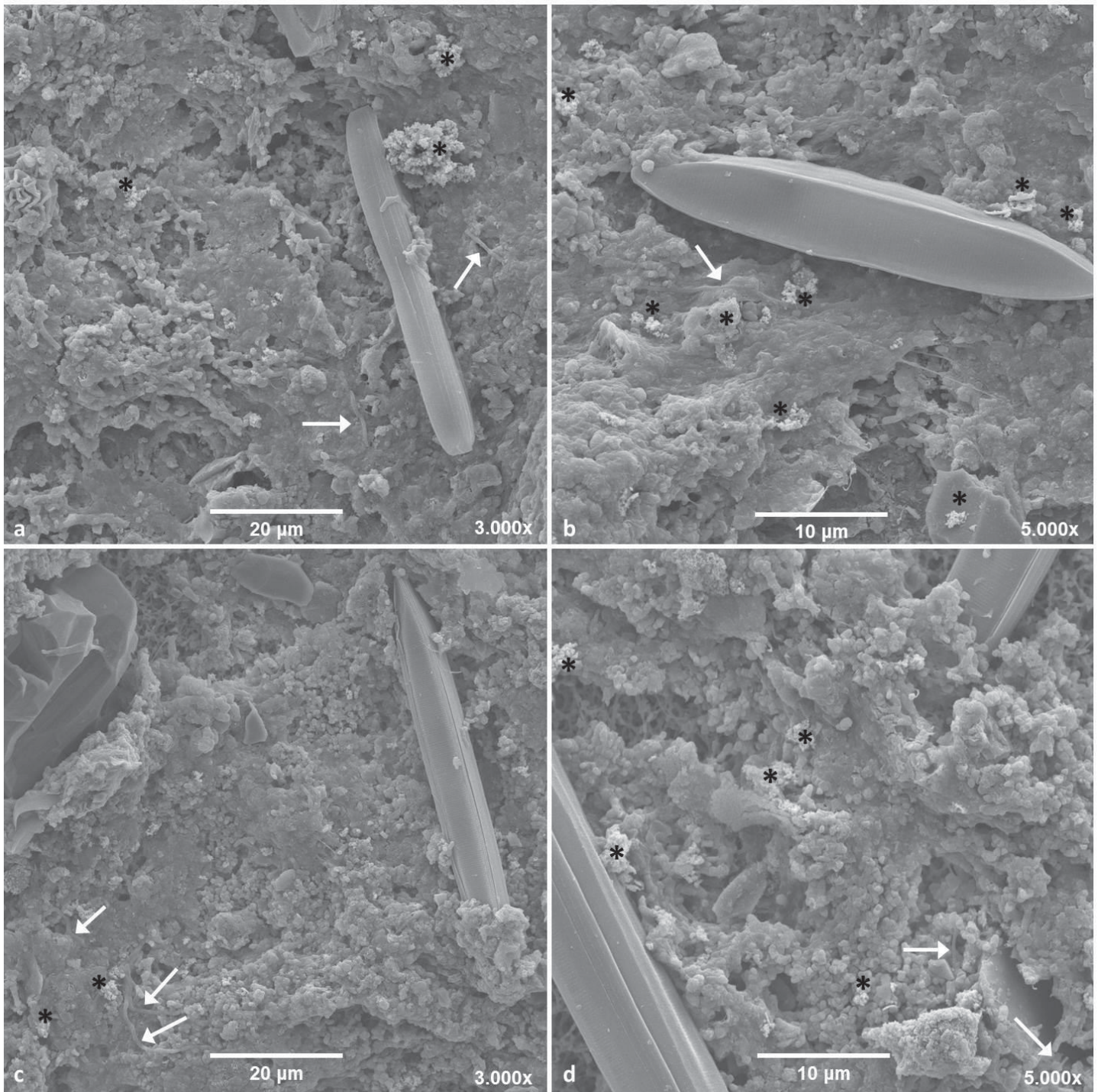
4.5.2.3 Resultados para a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na FIGURA 4.28 são apresentadas as fotomicrografias obtidas para o lodo do Reator 1. Assim como para a microscopia óptica, no lodo do Reator 1, foi possível observar a presença de organismos fitoplanctônicos, advindos do lodo coletado de uma lagoa facultativa. Também foi observada a presença de poucos micro-organismos filamentosos, conforme previamente discutido para a análise por microscopia óptica. Estes micro-organismos filamentosos podem ter sido favorecidos durante as fases de operação 8 e 9, pois ocorreu, para ambas, a adição simultânea de glicose e de fosfato ao reator.

Para ambas as fases de operação investigadas (8 e 9), a partir das fotomicrografias da FIGURA 4.28, é possível observar a presença de pontos relacionados ao acúmulo de substâncias poliméricas extracelulares, produzidas pelos micro-organismos do lodo do Reator 1 (na FIGURA 4.28, estas substâncias são evidenciadas por asteriscos). Isso indica que havia a intensa atividade metabólica microbiana durante a coleta das amostras de lodo para a análise por MEV. A secreção de substâncias poliméricas extracelulares também pode estar associada à formação de flocos biológicos mais uniformes e resistentes, conforme sugerido por Rocha, Braga e Braga (2017). Ao avaliar a formação e maturação de biofilmes por MEV, os autores observaram que amostras de lodo que apresentaram maior secreção de substâncias poliméricas extracelulares estava associada à maior uniformidade da estrutura, o que, por vez, favorecia a manutenção de populações microbianas metabolicamente ativas nos grânulos de lodo dos sistemas anaeróbios.

As fotomicrografias apresentadas na FIGURA 4.28 também indicam que, durante as fases de operação avaliadas para o Reator 1 (8 e 9), houve o notável predomínio de micro-organismos com células cocóides. A matriz do lodo estava densamente povoada por estes micro-organismos, para ambas as fases investigadas, como pode ser observado a partir da comparação entre as fotomicrografias a e b *versus* c e d.

FIGURA 4.28 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 1 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

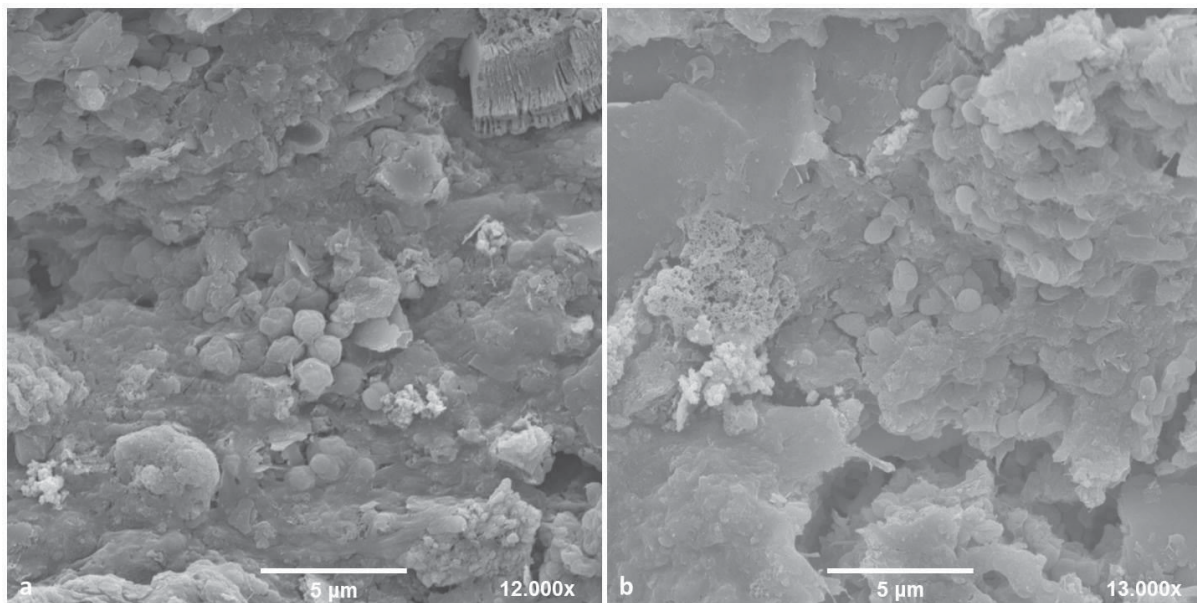


FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: **a e b**: lodo do Reator 1, 89° dia de operação, fase 8; **c e d**: lodo do Reator 1, 103° dia de operação, fase 9. Setas (→) apontam filamentos e asteriscos (*) indicam prováveis acúmulos de substâncias poliméricas extracelulares

Na FIGURA 4.29 são apresentadas as fotomicrografias para o lodo do Reator 1, com destaque para os aglomerados de células cocóides. Esta morfologia celular, conforme previamente mencionado, foi identificada como predominante nas amostras de lodo do Reator 1 processadas para a MEV.

FIGURA 4.29 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 1 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – CÉLULAS COCÓIDES

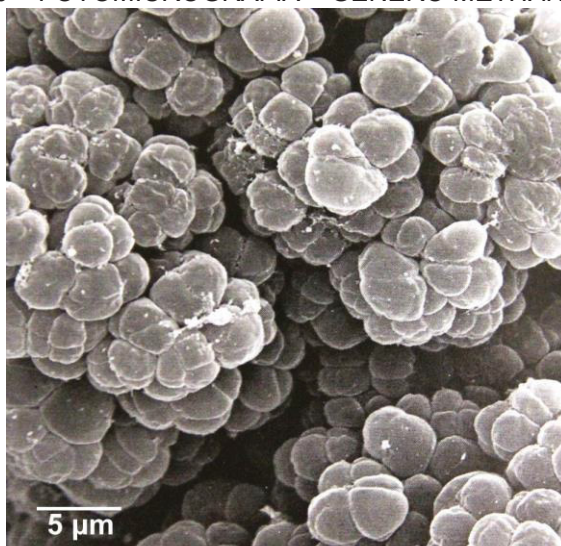


FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: **a:** lodo do Reator 1, 89° dia de operação, fase 8; **b:** lodo do Reator 1, 103° dia de operação, fase 9

Na FIGURA 4.30 são apresentadas as fotomicrografias de referência para a identificação de arqueas metanogênicas do gênero *Methanosarcina* sp.

FIGURA 4.30 – FOTOMICROGRAFIA – GÊNERO *METHANOSARCINA* sp.



FONTE: modificado de Garrity e Holt (2001)

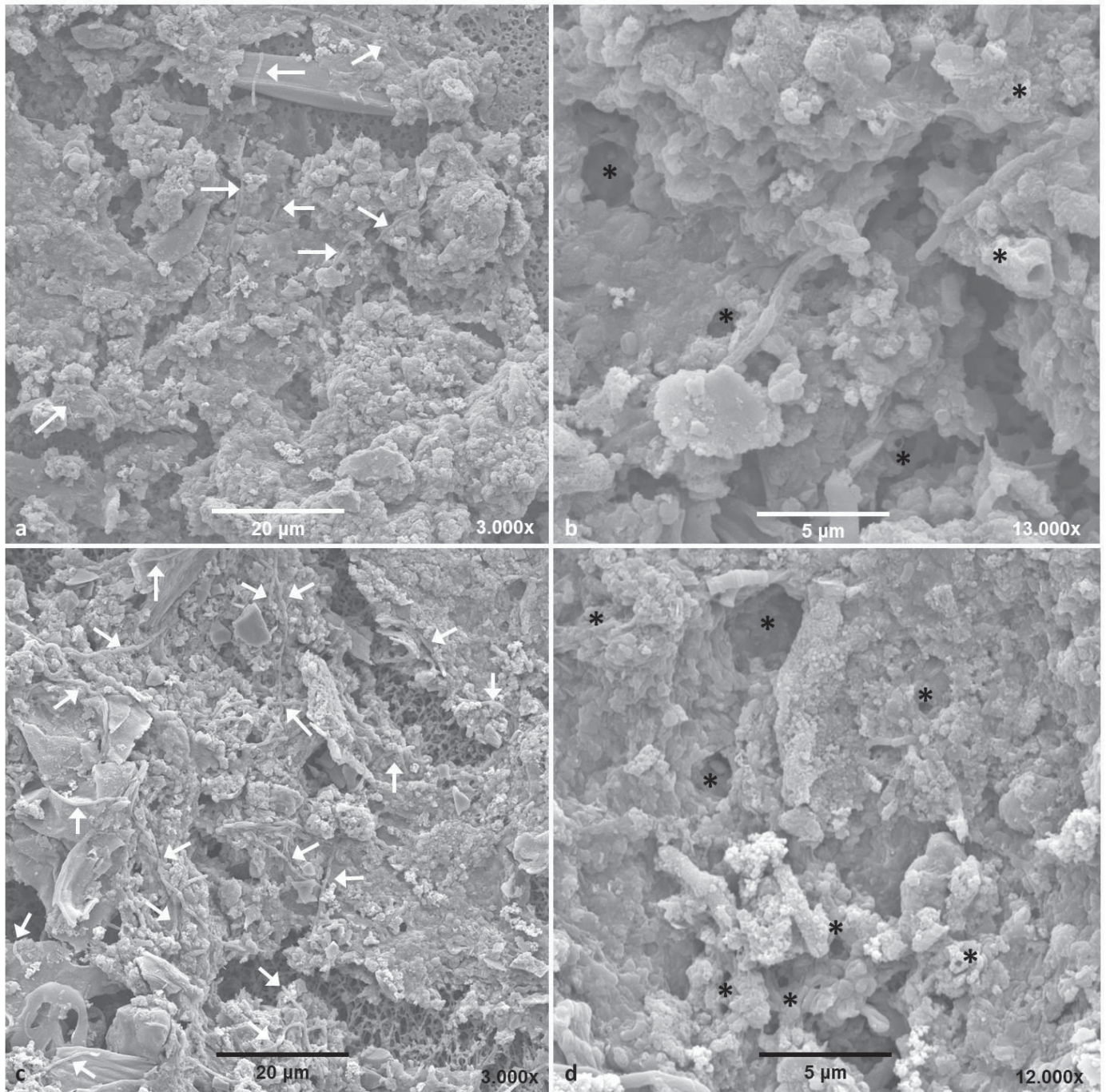
A partir da comparação entre as FIGURAS 4.29 e 4.30, sugere-se que os agrupamentos de cocos identificados nesta pesquisa apresentaram similaridade com micro-organismos metanogênicos da ordem *Methanosarcinales*, gênero *Methanosarcina* sp. Além de formarem aglomerados, micro-organismos do gênero *Methanosarcina* podem estar presentes como células individuais em sistemas anaeróbios (GARRITY; HOLT, 2001). Células cocóides irregulares e individualizadas, por outro lado, assemelham-se também a algumas arqueas metanogênicas da ordem *Methanomicrobiales*.

Estas duas morfologias, de aglomerados e de células cocóides, foram igualmente identificadas por Rocha (2011) em amostras de lodo anaeróbio inoculado em reatores de bateladas sequenciais, em escala de bancada, aplicados ao tratamento de lixiviado de aterro sanitário. Apesar de utilizar uma técnica diferente de microscopia (óptica de fluorescência), Contrera e colaboradores (2018) também observaram micro-organismos com morfologia similar à do gênero *Methanosarcina* em reator de bateladas sequenciais, em escala piloto, aplicado ao tratamento de lixiviado, conforme previamente apresentado na FIGURA 4.27.

Na FIGURA 4.31 são apresentadas as fotomicrografias obtidas a partir de amostras de lodo do Reator 2 durante as fases 8 e 9 de operação.

Na FIGURA 4.31, são indicados os micro-organismos filamentosos presentes no lodo do Reator 2. Especialmente para a fotomicrografia c, é possível observar a abundância destes filamentos no lodo, conforme sugeriram os resultados das análises por microscopia óptica. No período entre as fases de operação 8 e 9, foi observado o aumento da concentração de micro-organismos filamentosos, como pode ser observado a partir da comparação entre as fotomicrografias a e c. O crescimento da população de micro-organismos filamentosos pode ter ocorrido devido ao aumento da concentração do substrato alimentado aos reatores durante a fase 9, particularmente da glicose adicionada ao lixiviado, e da adição de fosfato, nutriente importante para o crescimento celular microbiano.

FIGURA 4.31 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 2 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA



FONTE: a autora (2020)

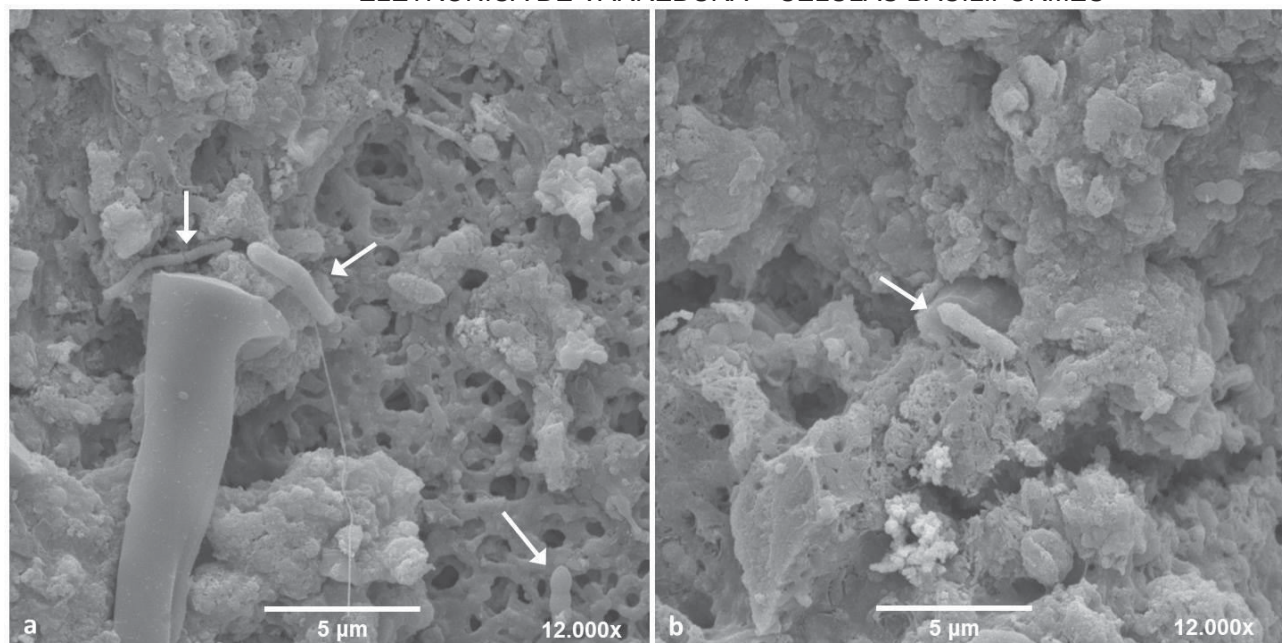
LEGENDA: **a e b:** lodo do Reator 2, 81° dia de operação, fase 8; **c e d:** lodo do Reator 2, 95° dia de operação, fase 9. Setas (→) apontam filamentos e asteriscos (*) indicam cavidades

Em comparação ao lodo do Reator 1, as amostras de lodo do Reator 2 apresentaram-se menos homogêneas. É possível, inclusive, observar fragmentações dos flocos biológicos nas fotomicrografias da FIGURA 4.31. Nas fotomicrografias b e d são indicadas as cavidades formadas nos flocos biológicos. Essas cavidades, observadas também por Rocha (2011) ao avaliar amostras de lodo anaeróbio por MEV, tratam-se, possivelmente, de canais de circulação do biogás e de outros tipos de material, e podem contribuir para a maior fragilidade da estrutura dos flocos biológicos. Conforme sugerido por Yamada e colaboradores (2007) e Li e colaboradores (2008), a presença de poros e canais em grânulos de lodos anaeróbios está associada também ao fenômeno de *bulking*, levando ao aprisionamento de bolhas de gás no grânulo e à consequente flotação e perda do lodo de um sistema anaeróbio.

Ao comparar a formação e maturação dos biofilmes de dois reatores anaeróbios em bateladas sequenciais, em escala piloto, Rocha, Braga e Braga (2017) observaram que o lodo que havia sido submetido a um bioaumento apresentava grânulos mais compactos e uniformes e isso, por vez, estava associado à maior eficiência na redução da concentração da DQO pelo sistema correspondente. Para esta pesquisa, sugere-se, da mesma forma, que a menor uniformidade do Lodo 2 esteja associada à menor eficiência de remoção de matéria orgânica observada para o Reator 2 em comparação ao Reator 1, para a fase 8 (32,0%, para o Reator 1; 9,9%, para o Reator 2) e fase 9 (48,7%, para o Reator 1; 28,8%, para o Reator 2). Os resultados da MEV estão de acordo com os obtidos para a análise por microscopia óptica, para os quais foi observada a diminuição do tamanho dos flocos biológicos do lodo do Reator 2 a partir da fase 7.

Apesar do lodo do Reator 2 apresentar estrutura pouco uniforme, e embora a morfologia predominante nas amostras do Lodo 2 seja de células cocóides, foram observadas morfologias não visualizadas nas amostras de lodo do Reator 1. Na FIGURA 4.32 são apresentadas as fotomicrografias das amostras de lodo do Reator 2, com destaque para micro-organismos baciliformes. Estes micro-organismos apresentam similaridade morfológica a arqueas metanogênicas da ordem *Methanobacteriales*.

FIGURA 4.32 – FOTOMICROGRAFIAS PARA O LODO DO REATOR 2 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – CÉLULAS BACILIFORMES

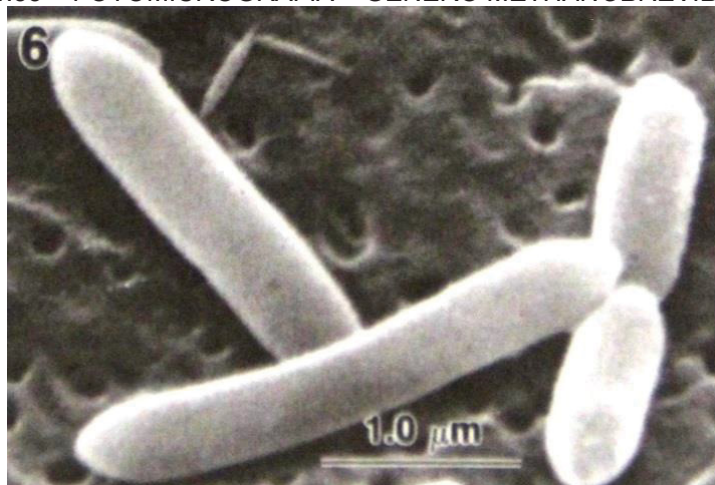


FONTE: a autora (2020)

LEGENDA: **a**: lodo do Reator 2, 81° dia de operação, fase 8; **b**: lodo do Reator 2, 95° dia de operação, fase 9. As setas (→) apontam para os micro-organismos baciliformes

As informações apresentadas na FIGURA 4.33 podem ser utilizadas como referência para a identificação de similaridade morfológica com arqueas do gênero *Methanobrevibacter* sp. Estes micro-organismos são caracterizados por apresentarem morfologia cocobacilar com extremidades afuniladas, em formato de lança. Nas fotomicrografias 4.32a, no canto inferior direito, apontado por uma seta, e 4.32b, no centro, apontado por uma seta, é possível observar micro-organismos com morfologia similar àquela da fotomicrografia da FIGURA 4.33.

FIGURA 4.33 – FOTOMICROGRAFIA – GÊNERO *METHANOBREVIBACTER* sp.



FONTE: Garrity e Holt (2001)

Para as amostras de lodo de ambos os reatores processadas para a MEV, a morfologia predominante foi a de células cocoides ou esferoides, conforme mencionado anteriormente, compatíveis com a morfologia de arqueas metanogênicas hidrogenotróficas. Em nenhuma das amostras foram visualizados micro-organismos que apresentassem morfologia similar à de arqueas metanogênicas do gênero *Methanothrix* (nome alternativo: *Methanosaeta*). Esta observação é relevante pois sugere que, para as fases de operação analisadas, 8 e 9, a metanogênese ocorreu predominantemente pela via hidrogenotrófica. Arqueas metanogênicas do gênero *Methanothrix* (nome alternativo: *Methanosaeta*) são as únicas exclusivamente acetoclásticas, e sua ausência nas amostras avaliadas para ambos os reatores indica que a via metanogênica acetoclástica foi pouco significativa para o tratamento do lixiviado pelos sistemas anaeróbios estudados.

Ao isolar e cultivar micro-organismos de lixiviado de aterro sanitário, Rocha, Braga e Braga (2017) observaram, por meio de análises moleculares e de MEV, que a maior parte da população microbiana metanogênica era, de fato, composta por arqueas hidrogenotróficas, particularmente dos gêneros *Methanobacteriales* e *Methanomicrobiales*, resultado em consonância com os observados nesta pesquisa. De maneira similar, Contrera e colaboradores (2018) observaram, por meio de microscopia óptica, a predominância de morfologias celulares cocóides e baciliformes, similares às de arqueas metanogênicas hidrogenotróficas, para amostras de lixiviado de aterro sanitário e de lixiviado efluente de um sistema anaeróbio de tratamento.

Estudos relativos à influência de fatores ambientais sobre a dinâmica de populações microbianas associadas a sistemas anaeróbios têm mostrado que, para concentrações elevadas de nitrogênio amoniacal total (NAT), por exemplo, superiores a 1.500 mg/L, e de amônia livre, maiores que 200 mg/L, as arqueas metanogênicas hidrogenotróficas são favorecidas em detrimento das acetoclásticas (DE VRIEZE et al., 2015; GAO et al., 2015; POIRIER et al., 2016; DE JONGE et al., 2017; BONK et al., 2018; PARK et al., 2018).

Para este estudo, o predomínio de micro-organismos com morfologias compatíveis às de arqueas hidrogenotróficas e a ausência de micro-organismos similares a arqueas acetoclásticas podem ser atribuídos, portanto, às elevadas concentrações afluentes de NAT, para as fases 8 e 9 (1.300 e 1.500 mg NH_4^+ /L, respectivamente), e de NH_3 , para as mesmas fases (230 e 250 mg/L,

respectivamente). Como sugerem os demais estudos citados, as arqueas metanogênicas hidrogenotróficas são mais resistentes a elevadas concentrações de NAT e de amônia livre em comparação às acetoclásticas, o que se torna relevante para sistemas biológicos aplicados ao tratamento de lixiviado, água residuária que geralmente apresenta elevada concentração destas substâncias.

Visando à comprovação dos resultados obtidos e das suposições baseadas apenas nas análises de microscopia, óptica e eletrônica de varredura, pode-se sugerir que os resultados obtidos por meio destas técnicas sejam confirmados por análises moleculares baseadas na quantificação do material genético microbiano. Também sugere-se que os dados obtidos a partir dessas análises moleculares sejam correlacionados às condições ambientais e operacionais dos sistemas aplicados ao tratamento de lixiviado, de forma a aprofundar a compreensão acerca da influência destes fatores sobre a dinâmica populacional microbiana.

Finalmente, outra consideração importante é que as análises de microscopia continuem a ser utilizadas para a avaliação de sistemas anaeróbios, como complemento às análises de parâmetros físicos e químicos. No QUADRO 4.10 são apresentadas as principais vantagens e limitações das técnicas utilizadas neste estudo, bem como são sugeridas aplicações para estudos futuros.

QUADRO 4.10 – COMPARATIVO ENTRE AS TÉCNICAS DE MICROSCOPIA UTILIZADAS E SUGESTÕES DE APLICAÇÃO

(continua)

	Microscopia óptica de campo claro	Microscopia óptica de fluorescência	Microscopia eletrônica, de varredura ou de transmissão
Grau de dificuldade para o preparo das amostras	Baixo	Baixo	Médio, além de demandar mais tempo para o preparo das amostras que as demais técnicas
Custo do material necessário ao preparo das amostras	Baixo	Baixo	Elevado
Custo do equipamento (microscópio)	Baixo	Médio	Elevado
Necessidade de equipamento adicional	Não	Sim: cubo de filtro apropriado para a amostra e lâmpada de mercúrio ou outra para emissão de luz ultravioleta	Sim: equipamento de ponto crítico e metalizador, para a microscopia eletrônica de varredura, e micrótomo, para a microscopia eletrônica de transmissão

QUADRO 4.10 – COMPARATIVO ENTRE AS TÉCNICAS DE MICROSCOPIA UTILIZADAS E SUGESTÕES DE APLICAÇÃO

	Microscopia óptica de campo claro	Microscopia óptica de fluorescência	Microscopia eletrônica, de varredura ou de transmissão
Recomendação de utilização	Detecção rápida de organismos indesejados ao processo anaeróbio, como protozoários, algas ou bactérias filamentosas em elevadas concentrações; caracterização morfológica de micro-organismos individualizados	Detecção rápida de presença de arqueas metanogênicas em lodos anaeróbios ou em culturas mistas	(conclusão) De varredura: análise da diversidade e da densidade populacional microbiana de lodos; caracterização morfológica de micro-organismos; corroboração de técnicas moleculares e outros métodos de identificação microbiana. De transmissão: análise da formação e espessura de biofilmes em material suporte (crescimento aderido) ou em grânulos
Potencialidades e sugestões para trabalhos futuros	Acompanhamento da formação e estrutura de flocos ou grânulos biológicos em função de distintas condições operacionais e ambientais	Identificação precisa de micro-organismos utilizando marcadores específicos por meio da técnica de hibridização fluorescente <i>in situ</i> (FISH – <i>fluorescence in situ hybridization</i>)	As microscopias eletrônicas de varredura e de transmissão podem ser combinadas à espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS – <i>energy-dispersive X ray spectroscopy</i>), que permite a análise dos elementos químicos presentes na amostra

FONTE: a autora (2020)

5 CONCLUSÃO

Nesta pesquisa, visando à aclimação ao lixiviado de aterro sanitário, dois lodos foram coletados, um deles, Lodo 1, proveniente de lagoa facultativa componente de um sistema de tratamento de lixiviado de aterro sanitário, e o outro, Lodo 2, de reator UASB utilizado para o tratamento de esgoto doméstico. Os lodos foram armazenados durante seis meses, sob refrigeração, condições que afetaram particularmente a atividade metanogênica específica do Lodo 2, mas não do Lodo 1. O lixiviado também foi armazenado durante seis meses, à temperatura ambiente, o que resultou na significativa diminuição da sua biodegradabilidade.

Os dados obtidos para os bioensaios visando à determinação da concentração da DQO solúvel inerte e da biodegradabilidade anaeróbia confirmaram a recalcitrância do lixiviado. Porém, os planejamentos fatoriais associados a esses bioensaios mostraram que as condições experimentais utilizadas, como a origem do lodo e a concentração afluente do lixiviado, podem ter influenciado os resultados.

Os Lodos 1 e 2 foram inoculados em reatores de bancada, Reator 1 e Reator 2, mantidos em operação por 120 e 112 dias, respectivamente. A operação foi subdividida em 10 fases. Durante as fases iniciais, foram obtidos valores baixos para a eficiência de remoção da DQO pelos dois sistemas anaeróbios, tendo sido observado, também, o arraste de sólidos dos reatores. Assim, com o objetivo de adicionar ao lixiviado uma fonte de carbono suplementar para estimular o desenvolvimento, a adaptação da microbiota e agregação dos micro-organismos em flocos sedimentáveis, uma solução de glicose passou, então, a ser alimentada. Após a adição da glicose ao lixiviado, foi identificado o menor arraste de sólidos dos reatores. Também foi observado o aumento da eficiência de remoção da DQO pelos dois sistemas anaeróbios associados, tendo sido obtidos os valores máximos de 49%, para o Reator 1, e 29%, para o Reator 2.

Em relação às condições ambientais avaliadas, foi observada a aclimação da microbiota dos dois sistemas a concentrações de nitrogênio amoniacal total próximas a 2.500 mg/L e de amônia livre em torno de 300 mg/L. A adição de fosfato, na proporção DQO/P de 200/1, não teve efeito observável sobre a eficiência de remoção da matéria orgânica dos sistemas anaeróbios, para as condições experimentais e período avaliado, de 7 dias. Contudo, as análises de microscopia

óptica mostraram que o fósforo adicional pode ter levado à proliferação de micro-organismos filamentosos.

Quanto às condições ambientais, apenas o tempo de detenção hidráulica (TDH) parece ter influenciado negativamente a aclimação da microbiota dos Reatores 1 e 2, em curto prazo. A mudança deste parâmetro, de 10 para 5 dias, levou à significativa redução da eficiência de remoção da DQO dos dois sistemas, mas ambos se recuperaram após aproximadamente 20 dias. Os resultados de eficiência de remoção da DQO indicam que a microbiota foi adequadamente aclimatada às seguintes condições operacionais: TDH de 4 dias; carga orgânica volumétrica de 1,0 g DQO/L.d; concentração da DQO afluente de 4.000 mg O₂/L.

Durante as fases em que a glicose foi utilizada juntamente com o lixiviado, foram observadas diferenças significativas entre o desempenho da microbiota dos Lodos 1 e 2, sendo a eficiência de remoção da DQO determinada para o Reator 2 menor que para o Reator 1. As diferenças entre a eficiência dos dois sistemas foram atribuídas principalmente à provável limitação da microbiota sintrófica e metanogênica do Lodo 2 em converter os ácidos orgânicos acumulados no meio reacional a biogás, condição sugerida a partir da maior concentração da acidez volátil total para o Reator 2, em comparação ao Reator 1, durante estas fases.

Durante a última fase da operação dos reatores, em que o substrato foi lixiviado puro, houve redução significativa da eficiência para os dois sistemas anaeróbios, que, nesta fase, apresentaram desempenho similar. Isso foi atribuído principalmente à elevada concentração de amônia livre presente nos reatores, na ordem de 1.100 mg/L, o que provavelmente levou à inibição da microbiota dos lodos.

A avaliação dos biofilmes por Microscopia Eletrônica de Varredura permitiu observar maior uniformidade estrutural do Lodo 1 em comparação ao Lodo 2, o que pode estar associado à maior eficiência observada para o primeiro. A identificação de morfologias similares às de arqueas dos gêneros *Methanosarcina* e *Methanobrevibacter* permite supor que houve predomínio da metanogênese hidrogenotrófica durante a aclimação da microbiota metanogênica dos Lodos 1 e 2 ao lixiviado de aterro sanitário. Dessa forma, as técnicas de microscopia se mostraram úteis para a obtenção de informações sobre a microbiologia dos sistemas anaeróbios. Contudo, ressalta-se a necessidade de complementação futura destes resultados com dados obtidos a partir de técnicas moleculares visando à quantificação e identificação dos micro-organismos dos lodos.

6 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

A seguir, são apresentadas recomendações para pesquisas futuras visando complementar os resultados obtidos neste estudo:

- realizar bioensaios associados a planejamentos fatoriais para determinar as condições operacionais e ambientais ótimas para o tratamento anaeróbio do lixiviado de aterro sanitário;
- utilizar técnicas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase quantitativa, para a quantificação de micro-organismos anaeróbios e facultativos em função de diferentes condições operacionais e ambientais associadas a sistemas de tratamento de águas residuárias;
- utilizar técnicas de microscopia óptica e eletrônica para acompanhar a formação e a maturação de biofilmes microbianos;
- associar técnicas moleculares como a hibridização fluorescente *in situ* à microscopia óptica de fluorescência, para avaliar a composição e o arranjo de populações microbianas anaeróbias e facultativas em função de diferentes condições operacionais e ambientais.

REFERÊNCIAS

- ALBERTSON, O. E. Ammonia nitrogen and the anaerobic environment. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, v. 33, n. 9, p. 978-995, 1961. Disponível em: www.jstor.org/stable/25034484. Acesso em: 20 ago. 2019.
- ALFAIA, R. G. de S. M.; COSTA, A. M.; CAMPOS, J. C. Municipal solid waste in Brazil: A review. *Waste Management and Research*, v. 35, n. 12, p. 1195-1209, 2017. Disponível em: doi.org/10.1177/0734242X17735375. Acesso em: 19 mar. 2019.
- ALLEMAN, J. E. *Free Ammonia-Nitrogen Calculator & Information*. 1998. Disponível em: home.eng.iastate.edu/~jea/w3-research/free-ammonia/nh3.html. Acesso em: 07 mar. 2020.
- AMARAL, M. C. S. et al. Avaliação da biodegradabilidade anaeróbia de lixiviados de aterro sanitário. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 13, n. 1, p. 38-45, 2008. Disponível em: dx.doi.org/10.1590/S1413-41522008000100006. Acesso em: 31 jul. 2019.
- AMARAL, M. C. S. et al. Characterization of landfill leachates by molecular size distribution, biodegradability, and inert chemical oxygen demand. *Water Environment Research*, v. 81, n. 5, p. 499-505, 2009. Disponível em: doi.org/10.2175/106143008X370557. Acesso em: 21 mar. 2020.
- AMORIM, A. K. B. et al. Tratamento físico-químico de lixiviados: estudos em escala de bancada com precipitação química, coagulação/floculação, adsorção com carvão ativado e reagente de Fenton. In: GOMES, L. P. (Coord.). *Resíduos Sólidos. Estudos de Caracterização e Tratabilidade de Lixiviados de Aterros Sanitários para as Condições Brasileiras*. Rio de Janeiro: ABES, 2009.
- ANGELIDAKI, I.; SANDERS, W. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, v. 3, n. 2, p. 117-129, 2004. Disponível em: doi.org/10.1007/s11157-004-2502-3. Acesso em: 01 ago. 2019.
- ANNACHHATRE, A. P. Anaerobic treatment of industrial wastewaters. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 16, n. 1-4, p. 161-166, 1996. Disponível em: [doi.org/10.1016/0921-3449\(95\)00053-4](https://doi.org/10.1016/0921-3449(95)00053-4). Acesso em: 25 jul. 2019.
- AQUINO, S. F. et al. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Revista Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 12, n. 2, p. 192-201, 2007. Disponível em: dx.doi.org/10.1590/S1413-41522007000200010. Acesso em: 20 ago. 2019.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS (ABRELPE). *Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil 2018/2019*. São Paulo: ABRELPE, 2019, 68 p.

BAETTKER, E. C. *Avaliação da tratabilidade de lixiviado de aterro sanitário combinado com esgoto sanitário em reator anaeróbio tipo UASB*. Tese (Doutorado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

BARKER, H. A. Biological formation of methane. *Industrial and Engineering Chemistry*, v. 48, n. 9, p. 1438-1442, 1956. Disponível em: pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ie51400a023. Acesso em: 20 ago. 2019.

BARROS NETO, B. de; SCARMINIO, I. E. ; BRUNS, R. E. *Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2010.

BOCHER, B. T. W. et al. Relating methanogen community structure and anaerobic digester function. *Water Research*, v. 70, p. 425-435, 2015. Disponível em: dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.12.018. Acesso em: 11 ago. 2019.

BONK, F. et al. Ammonia inhibition of anaerobic volatile fatty acid degrading microbial communities. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, p. 1-13, 2018. Disponível em: doi.org/10.3389/fmicb.2018.02921. Acesso em: 02 mar. 2020.

BRAZ, G. H. R. et al. Organic overloading affects the microbial interactions during anaerobic digestion in sewage sludge reactors. *Chemosphere*, v. 222, p. 323-332, 2019. Disponível em: doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.124. Acesso em: 04 ago. 2019.

BRAZ, G. H. R. et al. The time response of anaerobic digestion microbiome during an organic loading rate shock. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 102, p. 10285–10297, 2018. Disponível em: doi.org/10.1007/s00253-018-9383-9. Acesso em: 01 mar. 2020.

BUSWELL, A. M.; BORUFF, C. S. The relation between the chemical composition of organic matter and the quality and quantity of gas produced during sludge digestion. *Sewage Works Journal*, v. 4, n. 3, p. 454-460, 1932. Disponível em: www.jstor.org/stable/25028162. Acesso em: 14 fev. 2019.

CABEZAS, A. et al. How to use molecular biology tools for the study of the anaerobic digestion process? *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v. 14, p. 555-593, 2015. Disponível em: doi.org/10.1007/s11157-015-9380-8. Acesso em: 26 mai. 2020.

CHEESEMAN, P.; TOMS-WOOD, A.; WOLFE, R. S. Isolation and properties of a fluorescent compound, Factor420, from *Methanobacterium* Strain M.o.H. *Journal of Bacteriology*, v. 112, n. 1, p. 527-531, 1972. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC251440/. Acesso em: 22 fev. 2020.

CHERNICHARO, C. A. de L. *Reatores Anaeróbios*. 2ª ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, n. 92, 16 de mai. 2011, p. 89. Disponível em: www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646. Acesso em: 09 jul. 2019.

CONTRERA, R. C. et al. Biomass growth and its mobility in an AnSBBR treating landfill leachate. *Waste Management*, v. 82, p. 37-50, 2018. Disponível em: doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.006. Acesso em: 23 fev. 2020.

CONTRERA, R. C. et al. The “Chemical oxygen demand/total volatile acids” ratio as an anaerobic treatability indicator for landfill leachates. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 32, n. 1, p. 73-86, 2015. Disponível em: doi.org/10.1590/0104-6632.20150321s00003024. Acesso em: 24 fev. 2020.

COROMINAS, LI. et al. Transforming data into knowledge for improved wastewater treatment operation: A critical review of techniques. *Environmental Modelling & Software*, v. 106, p. 89-103, 2018. Disponível em: doi.org/10.1016/j.envsoft.2017.11.023. Acesso em: 06 ago. 2019.

COSTA, A. M.; ALFAIA, R. G. de S. M.; CAMPOS, J. C. Landfill leachate treatment in Brazil – An overview. *Journal of Environmental Management*, v. 232, p. 110-116, 2019. Disponível em: doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.11.006. Acesso em: 08 mar. 2019.

DE FRANCISCI, D. et al. Microbial diversity and dynamicity of biogas reactors due to radical changes of feedstock composition. *Bioresource Technology*, v. 176, p. 56-64, 2015. Disponível em: dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.126. Acesso em: 04 ago. 2019.

DE JONGE, N. et al. Microbial population dynamics in continuous anaerobic digesters systems during start up, stable conditions and recovery after starvation. *Bioresource Technology*, v. 232, p. 313-320, 2017. Disponível em: doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.03. Acesso em: 07 mar. 2020.

DE VRIEZE, J. et al. Ammonia and temperature determine potential clustering in the anaerobic digestion microbiome. *Water Research*, v. 75, p. 312-323, 2015. Disponível em: doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.025. Acesso em: 10 ago. 2019.

DE VRIEZE, J. et al. The full-scale anaerobic digestion microbiome is represented by specific marker populations. *Water Research*, v. 104, p. 101-110, 2016. Disponível em: dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.08.008. Acesso em: 07 mar. 2020.

DE VRIEZE, J.; VERSTRAETE, W.; BOON, N. Repeated pulse feeding induces functional stability in anaerobic digestion. *Microbial Biotechnology*, v. 6, n. 4, p. 414-424, 2013. Disponível em: doi.org/10.1111/1751-7915.12025. Acesso em: 04 ago. 2019.

DILALLO, R.; ALBERTSON, O. R. Volatile acids by direct titration. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, v. 23, n. 4, p. 356-365, 1961. Disponível em: www.jstor.org/stable/25034391. Acesso em: 07 ago. 2019.

DODDEMA, H. J.; VOGELS, G. D. Improved identification of methanogenic bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 36, n. 5, p. 752-754, 1978. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC243133/. Acesso em: 22 fev. 2020.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956. Disponível em: doi.org/10.1021/ac60111a017. Acesso em: 01 mar. 2020.

EDWARDS, T.; MCBRIDE, B. C. New method for the isolation and identification of methanogenic bacteria. *Applied Microbiology*, v. 29, n. 4, p. 540-545, 1975. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC187022/. Acesso em: 22 fev. 2020.

EHRIG, H. J. Water and element balances of landfills. In: Baccini P. (editores). *The Landfill. Lecture Notes in Earth Sciences*, v. 20, p. 83-115. Berlim: Springer, 1989.

ESLAMI, H. et al. Effect of organic loading rates on biogas production and anaerobic biodegradation of composting leachate in the anaerobic series bioreactors. *Ecological Engineering*, v. 110, p. 165-171, 2018. Disponível em: doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.11.007. Acesso em: 26 fev. 2020.

FERREIRA, M. M. C. *Quimiometria: Conceitos, métodos e aplicações*. Campinas: Editora da Unicamp, 2016.

GAO, S. et al. Tolerance response to in situ ammonia stress in a pilot-scale anaerobic digestion reactor for alleviating ammonia inhibition. *Bioresource Technology*, v. 198, p. 372-379, 2015. Disponível em: dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.044. Acesso em: 17 mar. 2020.

GARRITY, G. M.; HOLT, J. G. Phylum All. Euryarchaeota *phy. nov.* In: BOONE, D. R.; CASTENHOLZ, R. W. (Ed.). *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*, 2nd ed. New York: Springer, 2001. v. 1: The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria.

GERMIRLI, F.; ORHON, D.; ARTAN, N. Assessment of the initial inert soluble COD in industrial wastewaters. *Water Science and Technology*, v. 23, n. 4-6, p. 1077-1086, 1991. Disponível em: doi.org/10.2166/wst.1991.0559. Acesso em 14 jul. 2019.

GOOGLE MAPS; CNES; AIRBUS; DIGITALGLOBE. *Aterro da Caximba*. 2019. Disponível em: www.google.com.br/maps/place/Aterro+do+Caximba/@-25.6197428,49.3388345,984m/data=!3m2!1e3!4b1!4m5!3m4!1s0x94dcfe4f90dd2ab9:0x2a81f2dde68fc5a9!8m2!3d-25.6197477!4d-49.3366458!5m1!1e4. Acesso em: 01 jul. 2019.

GOOGLE MAPS; CNES; AIRBUS; DIGITALGLOBE. *ETE Padilha Sul*. 2019. Disponível em: www.google.com.br/maps/place/ETE+Sanepar+Padilha+Sul+-+Ganchinho,+Curitiba+-+PR/@-25.5630298,-49.2475866,985m/data=!3m2!1e3!4b1!4m5!3m4!1s0x94dcf97f3b115837:0xce8e374dd56b9ad6!8m2!3d-25.5632736!4d-49.2454996!5m1!1e4. Acesso em: 01 jul. 2019.

GOOGLE MAPS; CNES; AIRBUS; MAXAR TECHNOLOGIES. *Estre Ambiental CGR Iguçu*. 2019. Disponível em: www.google.com.br/maps/dir/-25.6600192,-49.3429116//@-25.6582178,-49.3452592,1048m/data=!3m1!1e3!4m2!4m1!3e3. Acesso em: 26 ago. 2019.

GOUX, X. et al. Start-up phase of an anaerobic full-scale farm reactor – Appearance of mesophilic anaerobic conditions and establishment of the methanogenic microbial community. *Bioresource Technology*, v. 212, p. 217-226, 2016. Disponível em: doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.040. Acesso em: 18 jun. 2020.

GREENING, C. et al. Physiology, biochemistry, and applications of F420- and Fo-dependent redox reactions. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 80, n. 2, p. 451-493, 2016. Disponível em: dx.doi.org/10.1128%2FMMBR.00070-15. Acesso em: 17 fev. 2020.

HAO, L. et al. New insights into the key microbial phylotypes of anaerobic sludge digesters under different operational conditions. *Water Research*, v. 102, p. 158-169, 2016. Disponível em: doi.org/10.1016/j.watres.2016.06.014. Acesso em: 11 ago. 2019.

IINO, T. et al. *Candidatus* Methanogranum caenicola: a novel methanogen from the anaerobic digested sludge, and proposal of *Methanomassiliicoccaceae* fam. nov. and *Methanomassiliicoccales* ord. nov., for a methanogenic lineage of the class *Thermoplasmata*. *Microbes and Environments*, v. 28, n. 2, p. 244-250, 2013. Disponível em: doi.org/10.1264/jsme2.ME12189. Acesso em: 29 jul. 2019.

JERIS, J. S.; MCCARTY, P. L. The biochemistry of methane fermentation using C¹⁴ tracers. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, v. 37, n. 2, p. 178-192, 1965. Disponível em: www.jstor.org/stable/25035234. Acesso em: 18 fev. 2019.

JU, F.; LAU, F.; ZHANG, T. Linking microbial community, environmental variables, and methanogenesis in anaerobic biogas digesters of chemically enhanced primary treatment sludge. *Environmental Science & Technology*, v. 51, n. 7, p. 3982-3992, 2017. Disponível em: doi.org/10.1021/acs.est.6b06344. Acesso em: 07 mar. 2020.

KATO, M. T.; FIELD, J. A.; LETTINGA, G. Anaerobe tolerance to oxygen and the potentials of anaerobic and aerobic cocultures for wastewater treatment. *Brazilian Journal of Chemical Engineering (online)*, v. 14, n. 4, 1997. Disponível em: doi.org/10.1590/S0104-66321997000400015. Acesso em: 27 mar. 2020.

KENNEDY, K. J.; LENTZ, E. M. Treatment of landfill leachate using sequencing batch and continuous flow upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Water Research*, v. 34, n. 14, p. 3640-3656, 2000. Disponível em: [doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00114-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00114-7). Acesso em: 02 mar. 2020.

KJELDSEN, P. et al. Present and long-term composition of MSW landfill leachate: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 32, n. 4, p. 297-336, 2002. Disponível em: doi.org/10.1080/10643380290813462. Acesso em: 08 mar. 2019.

KOWALCZYK, A. et al. Refinement of biodegradation tests methodologies and the proposed utility of new microbial ecology techniques. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 111, p. 9-22, 2015. Disponível em: doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.021. Acesso em: 01 ago. 2019.

LATOCHESKI, E. C.; BRAGA, M. C. B. Relação entre sólidos voláteis e atividade metanogênica específica de lodos anaeróbios. In: SIMPÓSIO SOBRE SISTEMAS SUSTENTÁVEIS, 5., 2019, Porto Alegre. *Anais...*, v. 1. Porto Alegre: Editora GFM, 2019. p. 944-950.

LEE, C. et al. Quantitative analysis of methanogenic community dynamics in three anaerobic batch digesters treating different wastewaters. *Water Research*, v. 43, n. 1, p. 157-165, 2009. Disponível em: doi.org/10.1016/j.watres.2008.09.032. Acesso em: 23 jul. 2019.

LEE, J.; HWANG, S. Single and combined inhibition of *Methanosaeta concilii* by ammonia, sodium ion and hydrogen sulfide. *Bioresource Technology*, v. 281, p. 401-411, 2019. Disponível em: doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.106. Acesso em: 10 ago. 2019.

LEMAIGRE, S. et al. Potential of multivariate statistical process monitoring based on the biogas composition to detect free ammonia intoxication in anaerobic reactors. *Biochemical Engineering Journal*, v. 140, p. 17-28, 2018. Disponível em: doi.org/10.1016/j.bej.2018.08.018. Acesso em: 11 ago. 2019.

LETTINGA, G. et al. Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. *Biotechnology and Bioengineering*, v. XXII, p. 699-734, 1980. Disponível em: doi.org/10.1002/bit.260220402. Acesso em: 28 jul. 2020.

LI, J. et al. Filamentous granular sludge bulking in a laboratory scale UASB reactor. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 9, p. 3431-3438, 2008. Disponível em: doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.005. Acesso em: 13 mar. 2020.

LIU, Y.; WHITMAN, W. B. Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic Archaea. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1125, n. 1, p. 171-189, 2008. Disponível em: doi.org/10.1196/annals.1419.019. Acesso em: 29 jul. 2019.

MACLEOD, F. A.; GUIOT, S. R.; COSTERTON, J. W. Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 56, n. 6, p. 1598-1607, 1990. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC184478/pdf/aem00087-0102.pdf. Acesso em: 20 ago. 2019.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. *Microbiologia de Brock*. Tradução de: KYAW, C. M. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004. Título original: Brock Biology of Microorganisms.

MCCARTY, P. L. Anaerobic waste treatment fundamentals. Part One: Chemistry and Microbiology. *Public Works*, v. 95, n. 9, p. 107-112, 1964a.

MCCARTY, P. L. Anaerobic waste treatment fundamentals. Part Two: Environmental Requirements and Control. *Public Works*, v. 95, n.10, p. 123-126, 1964b.

MCCARTY, P. L. Anaerobic waste treatment fundamentals. Part Three: Toxic Materials and their Control. *Public Works*, v. 95, n.11, p. 91-94, 1964c.

MCCARTY, P. L.; JERIS, J. S.; MURDOCH, W. Individual volatile acids in anaerobic treatment. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, v. 35, n. 12, p. 1501-1516, 1963.

MCCARTY, P. L.; MCKINNEY, R. E. Salt toxicity in anaerobic treatment. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, v. 33, n. 4, p. 399-415, 1961a. Disponível em: www.jstor.org/stable/25034396. Acesso em: 24 jul. 2019.

MCCARTY, P. L.; MCKINNEY, R. E. Volatile acid toxicity in anaerobic digestion. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, v. 33, n. 3, p. 223-232, 1961b. Disponível em: www.jstor.org/stable/25034369. Acesso em: 24 jul. 2019.

MELBINGER, N. R.; DONNELLON, J.; HERMAN, R. Z. Effects of ammonia nitrogen in high-rate digestion (with discussion). *Journal of the Water Pollution Control Federation*, v. 43, n. 8, p. 1658-1670, 1971. Disponível em: www.jstor.org/stable/25037154. Acesso em: 19 fev. 2019.

MORAIS, R. G. de. *Estudo da adaptação do inóculo ao lixiviado de aterro sanitário visando o tratamento anaeróbio em reator de leito fluidizado*. 107 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

MÜLLER, W. R.; FROMMERT, I.; JÖRG, R. Standardized methods for anaerobic biodegradability testing. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, v. 3, n. 2, p. 141-158, 2004. Disponível em: doi.org/10.1007/s11157-004-4350-6. Acesso em: 01 ago. 2019.

NIERYCHLO, M. et al. Species-level microbiome composition of activated sludge - introducing MiDAS 3 ecosystem-specific reference database and taxonomy. *bioRxiv*, p. 1-20, 2019. Disponível em: doi.org/10.1101/842393. Acesso em: 07 mar. 2020.

NOUHA, K. et al. Critical review of EPS production, synthesis and composition for sludge flocculation. *Journal of Environmental Sciences*, v. 66, p. 225-245, 2018. Disponível em: dx.doi.org/10.1016/j.jes.2017.05.020. Acesso em: 20 mar. 2020.

O'LEARY, P. R.; TCHOBANOGLIOUS, G. Landfilling. In: TCHOBANOGLIOUS, G.; KREITH, F. (Ed.). *Handbook of Solid Waste Management*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 2002. p. 14.1-14.93.

OZ, N. A. et al. Effect of seed sludge microbial community and activity on the performance of anaerobic reactors during the start-up period. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 28, n. 2, p. 637-647, 2012. Disponível em: [dx.doi.org/10.1007/s11274-011-0857-5](https://doi.org/10.1007/s11274-011-0857-5). Acesso em: 12 fev. 2019.

PAGGA, U. Testing biodegradability with standardized methods. *Chemosphere*, v. 35, n. 12, p. 2953-2972, 1997. Disponível em: [doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00262-2](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00262-2). Acesso em: 01 ago. 2019.

PARK, JH. et al. Effects of acclimation and pH on ammonia inhibition for mesophilic methanogenic microflora. *Waste Management*, v. 80, p. 218-223, 2018. Disponível em: doi.org/10.1016/j.wasman.2018.09.016. Acesso em: 08 set. 2019.

PARKIN, G. F. et al. Response of methane fermentation systems to industrial toxicants. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, v. 55, n. 1, p. 44-53, 1983. Disponível em: www.jstor.org/stable/25041796. Acesso em: 15 fev. 2019.

PAUL, K. et al. "Methanoplasmatales," *Thermoplasmatales*-related Archaea in termite guts and other environments, are the seventh order of methanogens. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 78, n. 23, p. 8245-8253, 2012. Disponível em: doi.org/10.1128/AEM.02193-12. Acesso em: 24 jul. 2019.

PENG, Y. Perspectives on technology for landfill leachate treatment. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 10, n. 2, p. S2567-S2574, 2017. Disponível em: [dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.09.031](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.09.031). Acesso em: 28 ago. 2019.

POIRIER, S. et al. Anaerobic digestion of biowaste under extreme ammonia concentration: Identification of key microbial phylotypes. *Bioresource Technology*, v. 207, p. 92-101, 2016. Disponível em: [dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.124](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.124). Acesso em: 17 mar. 2020.

PRADO, L. L. do. *Utilização de lodo de esgoto pirolisado como adsorvente de amônio de lixiviado de aterro sanitário*. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

REGUEIRO, L.; LEMA, J. M.; CARBALLA, M. Key microbial communities steering the functioning of anaerobic digesters during hydraulic and organic overloading shocks. *Bioresource Technology*, v. 197, p. 208-216, 2015. Disponível em: doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.076. Acesso em: 04 ago. 2019.

REITSCHULER, C.; LINS, P.; ILLMER, P. Primer evaluation and adaptation for cost-efficient SYBR Green-based qPCR and its applicability for specific quantification of methanogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 30, n. 1, p. 293-304, 2014. Disponível em: doi.org/10.1007/s11274-013-1450-x. Acesso em: 24 jun. 2019.

RENOU, S. et al. Landfill leachate treatment: Review and opportunity. *Journal of Hazardous Materials*, v. 150, n. 3, p. 468-493, 2008. Disponível em: doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.077. Acesso em: 18 mar. 2019.

RICE, E. W. et al. (Ed.). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 22th ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2012.

RIETOW, J. C. *Avaliação do processo de arraste de amônia como pré-tratamento de lixiviado de aterro sanitário para codisposição em reatores anaeróbios tipo UASB tratando esgoto sanitário*. 208 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, v. 58, n. 5, p. 406-411, 1986. Disponível em: www.jstor.org/stable/25042933. Acesso em: 03 ago. 2019.

ROCHA, M. C. V. da. *Digestão anaeróbia de lixiviado de aterro sanitário: avaliação do bioaumento da microbiota autoimobilizada*. 123 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

ROCHA, M. C. V.; BRAGA, S. M.; BRAGA, M. C. B. Evaluation of the effects of bioaugmentation on the efficiency of anaerobic treatment of landfill leachate. *The Journal of Solid Waste Technology and Management*, v. 43, n. 2, p. 91-101, 2017. Disponível em: doi.org/10.5276/JSWTM.2017.91. Acesso em: 28 ago. 2019.

SAKAI, S. et al. *Methanocella paludicola* gen. nov., sp. nov., a methane-producing archaeon, the first isolate of the lineage 'Rice Cluster I', and proposal of the new archaeal order *Methanocellales* ord. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 58, p. 929-936, 2008. Disponível em: dx.doi.org/10.1099/ijs.0.65571-0. Acesso em: 29 jul. 2019.

SEKIGUCHI, Y. et al. First genomic insights into members of a candidate bacterial phylum responsible for wastewater bulking. *PeerJ*, v. 3, n. e740, p. 1-24, 2015. Disponível em: doi.org/10.7717/peerj.740. Acesso em: 13 mar. 2020.

SOUTO, G. D. B. *Lixiviado de aterros sanitários brasileiros – estudo de remoção de nitrogênio amoniacal por processo de arraste com ar ("stripping")*. 371 p. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

SOUTO, T. F. et al. Influence of incubation conditions on the specific methanogenic activity test. *Biodegradation*, v. 21, n. 3, p. 411-424, 2010. Disponível em: doi.org/10.1007/s10532-009-9311-x. Acesso em: 31 jul. 2019.

SPEECE, R. E. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environmental Science Technology*, v. 17, n. 9, p. 416A-427A, 1983. Disponível em: pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es00115a725. Acesso em: 20 fev. 2019.

SPEECE, R. E. Environmental requirements for anaerobic digestion of biomass. In: BÖER, K. W.; DUFFIE, J. A. (Ed.). *Advances in Solar Energy: an Annual Review of Research and Development*, v. 2. New York: Plenu Press, 1985. p. 51-123.

SUÁREZ, W. et al. Predominance of syntrophic bacteria, *Methanosaeta* and *Methanoculleus* in a two-stage up-flow anaerobic sludge blanket reactor treating coffee processing wastewater at high organic loading rate. *Bioresource Technology*, v. 268, p. 158-168, 2018. Disponível em: doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.091. Acesso em: 07 mar. 2020.

SUN, L. et al. Isolation and characterization of *Flexilinea flocculi* gen. nov., sp. nov., a filamentous, anaerobic bacterium belonging to the class *Anaerolineae* in the phylum *Chloroflexi*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 66, n. 2, p. 988-996, 2016. Disponível em: doi.org/10.1099/ijsem.0.000822. Acesso em: 13 mar. 2020.

TALE, V. P. et al. Methanogen community structure-activity relationship and bioaugmentation of overloaded anaerobic digesters. *Water Research*, v. 45, n. 16, p. 5249–5256, 2011. Disponível em: doi.org/10.1016/j.watres.2011.07.035. Acesso em: 11 ago. 2019.

TCHOBANOGLIOUS, G. et al. *Tratamento de Efluentes e Recuperação de Recursos*. Tradução de: HESPANHOL, I.; MIERZWA, J. C. 5. ed. Porto Alegre: AMGH, 2016. Título original: Wastewater Engineering: Treatment and Reuse.

TIAN, H. et al. Acclimation to extremely high ammonia levels in continuous biomethanation process and the associated microbial community dynamics. *Bioresource Technology*, v. 247, p. 616-623, 2018. Disponível em: dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.148. Acesso em: 31 jul. 2019.

TREU, L. et al. Deeper insight into the structure of the anaerobic digestion microbial community; the biogas microbiome database is expanded with 157 new genomes. *Bioresource Technology*, v. 216, p. 260-266, 2016. Disponível em: doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.081. Acesso em: 07 mar. 2020.

VAN VELSEN, A. F. M. Adaptation of methanogenic sludge to high ammonia-nitrogen concentrations. *Water Research*, v. 13, n. 10, p. 995-999, 1979. Disponível em: [doi.org/10.1016/0043-1354\(79\)90194-5](https://doi.org/10.1016/0043-1354(79)90194-5). Acesso em: 19 fev. 2019.

VENKITESHWARAN, K. et al. Correlating methane production to microbiota in anaerobic digesters fed synthetic wastewater. *Water Research*, v. 110, p. 161-169, 2017. Disponível em: doi.org/10.1016/j.watres.2016.12.010. Acesso em: 11 ago. 2019.

VUOLO, J. H. Propagação de erros. In: VUOLO, J. H. *Fundamentos da teoria de erros*. São Paulo: Blucher, 1992.

XU, R. et al. Organic loading rate and hydraulic retention time shape distinct ecological networks of anaerobic digestion related microbiome. *Bioresource Technology*, v. 262, p. 184-193, 2018. Disponível em: doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.083. Acesso em: 04 abr. 2020.

YAMADA, T. et al. Characterization of filamentous bacteria, belonging to candidate phylum KSB3, that are associated with bulking in methanogenic granular sludges. *The ISME Journal*, v. 1, n. 3, p. 246-255, 2007. Disponível em: doi.org/10.1038/ismej.2007.28. Acesso em: 13 mar. 2020.

YAMADA, T. et al. Diversity, localization, and physiological properties of filamentous microbes belonging to *Chloroflexi* subphylum I in mesophilic and thermophilic methanogenic sludge granules. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n. 11, p. 7493-7503, 2005. Disponível em: doi.org/10.1128/AEM.71.11.7493-7503.2005. Acesso em: 13 mar. 2020.

ZANICOTTI, B. L. R.; POSSETTI, G. R. C. (Org.). *Tecnologias Potenciais para o Saneamento*. Curitiba: SANEPAR, 2018. v. 3: Disposição de lixo de aterro sanitário em reatores UASB.

ZAYEN, A.; SCHORIES, G.; SAYADI, S. Incorporation of an anaerobic digestion step in a multistage treatment system for sanitary landfill leachate. *Waste Management*, v. 53, p. 32-39, 2016. Disponível em: doi.org/10.1016/j.wasman.2016.04.030. Acesso em: 26 fev. 2020.

ZHANG, W. et al. Inhibitory effects of free propionic and butyric acids on the activities of hydrogenotrophic methanogens in mesophilic mixed culture fermentation. *Bioresource Technology*, v. 272, p. 458-464, 2018. Disponível em: doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.076. Acesso em: 08 set. 2019.

ZICKEFOOSE, C.; HAYES, R. B. *Anaerobic Sludge Digestion: Operations Manual*. EPA 430/9-76-001. Washington: United States Environmental Protection Agency, 1976. Disponível em: nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockkey=00000IKT.txt. Acesso em: 09 abr. 2020.

ZIGANSHINA, E. et al. Comparison of anaerobic digestion strategies of nitrogen-rich substrates: Performance of anaerobic reactors and microbial community diversity. *Waste management*, v. 59, p. 160-171, 2017. Disponível em: dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2016.10.038. Acesso em: 05 mar. 2020.

ZIGANSHIN, A. M. et al. Reduction of the hydraulic retention time at constant high organic loading rate to reach the microbial limits of anaerobic digestion in various reactor systems. *Bioresource Technology*, v. 217, p. 62-71, 2016. Disponível em: doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.096. Acesso em: 04 abr. 2020.

APÊNDICE 1 – EQUAÇÕES UTILIZADAS PARA A INTERPRETAÇÃO DOS PLANEJAMENTOS FATORIAIS

Suposições assumidas para a estimativa do desvio experimental e do desvio-padrão de um efeito:

- 1) A variância para todos os experimentos é a mesma, para toda a região experimental investigada;
- 2) A variância (s^2) obtida para o ponto central (PC) pode ser utilizada como estimativa da variância de um efeito;
- 3) O desvio-padrão (s) obtido para o ponto central (PC) pode ser utilizado como estimativa do desvio-padrão para um efeito.

Equações para a estimativa do desvio experimental e desvio-padrão de um efeito:

- 1) Eficiência média para o PC ($\bar{y}_{\text{replicata}}$) = $\frac{\sum \text{eficiência}_n}{N}$, sendo n a replicata para o ponto central (PC) e N o número de replicatas realizadas para o PC
- 2) Número de graus de liberdade (v) = número de replicatas para o PC – 1
- 3) Variância para o PC ($s^2_{\text{experimental}}$) = $\frac{\sum (\text{eficiência}_n - \bar{y}_{\text{replicata}})^2}{v}$, sendo n a replicata para o PC
- 4) Desvio-padrão para o PC ($s_{\text{experimental}}$) = $\sqrt{s^2_{\text{experimental}}}$
- 5) Desvio-padrão para um efeito (s_{efeito}) $\approx s_{\text{experimental}}$
- 6) Valor limite para que o valor absoluto do efeito seja significativo = $s_{\text{efeito}} \times t_{\text{tabelado}, \alpha, v}$ sendo α o nível de significância adotado e v o número de graus de liberdade para o PC. t corresponde ao ponto da distribuição de Student para α e v .

Equações utilizadas para o cálculo dos efeitos dos fatores (concentração de lodo e DQO afluente) sobre a resposta (eficiência de remoção da DQO):

- 7) Efeito principal da concentração do lodo (C) = $\frac{-\text{eficiência}_1 + \text{eficiência}_2 - \text{eficiência}_3 + \text{eficiência}_4}{2}$
- 8) Efeito principal da DQO afluente (D) = $\frac{\text{eficiência}_1 + \text{eficiência}_2 - \text{eficiência}_3 - \text{eficiência}_4}{2}$
- 9) Efeito da interação C x D (%) = $\frac{-\text{eficiência}_1 + \text{eficiência}_2 + \text{eficiência}_3 - \text{eficiência}_4}{2}$

APÊNDICE 2 – RESULTADOS DETALHADOS PARA OS PLANEJAMENTOS FATORIAIS ASSOCIADOS AOS BIOENSAIOS

DQO solúvel inerte do lixiviado

AMOSTRA:		Lodo 1 - lagoa facultativa	
Experimento	Concentração do lodo (g SVT/ L _{reação})	DQO afluente (g _{DQO} /L _{reação})	DQO inerte (%)
1	1,0	1,514	79,3
2	3,0	1,514	44,6
3	1,0	0,757	93,0
4	3,0	0,757	102,2
PC	2,0	1,135	81,4
PC	2,0	1,135	92,3
PC	2,0	1,135	97,2

AMOSTRA:		Lodo 2 - reator UASB	
Experimento	Concentração do lodo (g SVT/ L _{reação})	DQO afluente (g _{DQO} /L _{reação})	DQO inerte (%)
1	1,0	1,514	43,4
2	3,0	1,514	38,3
3	1,0	0,757	66,1
4	3,0	0,757	46,0
PC	2,0	1,135	46,4
PC	2,0	1,135	54,6
PC	2,0	1,135	39,1

Estimativa do desvio experimental a partir dos Pontos Centrais (PC)		Equação correspondente
y médio da replicata (PC):	90,3	1
graus de liberdade (v):	2	2
s ² experimental:	65,41	3
s efeito:	8,09	4
nível de significância (α):	0,05	-
t tabeladoα, v:	4,303	-
Valor limite para que valor absoluto efeito seja significativo:	34,8	6
Cálculo dos efeitos		Efeito é significativo?
Concentração do lodo (C):	-12,8	não
DQO afluente (D):	-35,6	sim
C x D:	-22,0	não

Estimativa do desvio experimental a partir dos Pontos Centrais (PC)		Equação correspondente
y médio da replicata (PC):	46,7	1
graus de liberdade (v):	2	2
s ² experimental:	60,13	3
s efeito:	7,75	4
nível de significância (α):	0,05	-
t tabeladoα, v:	4,303	-
Valor limite para que valor absoluto efeito seja significativo:	33,4	6
Cálculo dos efeitos		Efeito é significativo?
Concentração do lodo (C):	-12,6	não
DQO afluente (D):	-15,2	não
C x D:	7,5	não

Biodegradabilidade anaeróbia do lixiviado

AMOSTRA:		Lodo 1 - lagoa facultativa	
SUBSTRATO:		Lixiviado diluído	
Experimento	Concentração do lodo (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g _{DQO} /L _{reação})	DQO efluente/ DQO afluente (%)
1	1,0	1,514	98,5
2	3,0	1,514	90,3
3	1,0	0,757	114,0
4	3,0	0,757	136,0
PC	2,0	1,135	106,9
PC	2,0	1,135	117,2
PC	2,0	1,135	118,6

AMOSTRA:		Lodo 2 - reator UASB	
SUBSTRATO:		Lixiviado diluído	
Experimento	Concentração do lodo (g SVT/L _{reação})	DQO afluente (g _{DQO} /L _{reação})	DQO efluente/ DQO afluente (%)
1	1,0	1,514	106,8
2	3,0	1,514	113,3
3	1,0	0,757	123,2
4	3,0	0,757	126,6
PC	2,0	1,135	105,9
PC	2,0	1,135	110,6
PC	2,0	1,135	112,5

Estimativa do desvio experimental a partir dos Pontos Centrais (PC)		Equação correspondente
y médio da replicata (PC):	114,2	1
graus de liberdade (v):	2	2
s ² experimental:	40,82	3
s efeito:	6,39	4
nível de significância (α):	0,05	-
t tabelado α, v:	4,303	-
Valor limite para que valor absoluto efeito seja significativo:	27,5	6
Cálculo dos efeitos		Efeito é significativo?
Concentração do lodo (C):	6,9	não
DQO afluente (D):	-30,6	sim
C x D:	-15,1	não

Estimativa do desvio experimental a partir dos Pontos Centrais (PC)		Equação correspondente
y médio da replicata (PC):	109,7	1
graus de liberdade (v):	2	2
s ² experimental:	11,54	3
s efeito:	3,40	4
nível de significância (α):	0,05	-
t tabelado α, v:	4,303	-
Valor limite para que valor absoluto efeito seja significativo:	14,6	6
Cálculo dos efeitos		Efeito é significativo?
Concentração do lodo (C):	5,0	não
DQO afluente (D):	-14,9	sim
C x D:	1,6	não